

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MOLEKÜLER BASKILI POLİMERİK NANOMALZEMELERİN OPTİK
BİYOTARAYICI UYGULAMALARI İÇİN TASARIM VE ÜRETİMİ**

DOKTORA TEZİ

Zehra OLUZ

Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hatice DURAN DURMUŞ

TEMMUZ, 2019

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Müdür

Bu tezin Doktora derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

.....
Prof. Dr. Hamza KURT
Ana Bilim Dalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 121617001 numaralı Doktora Öğrencisi **Zehra OLUZ**'un ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **“MOLEKÜLER BASKILI POLİMERİK NANOMALZEMELERİN OPTİK BİYOTARAYICI UYGULAMALARI İÇİN TASARIM VE ÜRETİMİ”** başlıklı tezi **17/07/2019** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Hatice DURAN DURMUŞ**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof.Dr. İsmail Hakkı BOYACI(Başkan)**
Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Ali ÇIRPAN
Orta Doğu Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet MUTLU
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Zehra Oluz

ÖZET

Doktora Tezi

MOLEKÜLER BASKILI POLİMERİK NANOMALZEMELERİN OPTİK BİYOTARAYICI UYGULAMALARI İÇİN TASARIM VE ÜRETİMİ

Zehra Oluz

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hatice Duran Durmuş

Tarih: Temmuz 2019

Bu çalışmada optik bir sistem olan Yüzey Plazmon Spektroskopide çalıştırılmak üzere, sensör uygulamalarında oldukça umut vaat eden moleküler baskılı polimerler (MBP) 100 nm boyutunda silika nanoparçacıkların yüzeyinde üretildi. Stöber metodu ile nanonoparçacık üretiminin gerçekleştirilmesinin ardından yüzey ileri modifikasyon basamaklarına 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) kaplaması ile hazırlandı. 4,4'-azobissiyano pentanoik asit (ACPA) başlatıcı tabakasının nanoparçacık yüzeyine sabitlenmesinin ardından metakrilik asit (MAA) ve etilen glikol dimetakrilat (EDMA) monomerleriyle, 2-fenilprop 2-il ditiyobenzoat (CDB) RAFT ajanı varlığında UV ışığı altında molekül ağırlığı üzerinde etkili bir kontrol sağlayan tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) gerçekleştirildi. Her bir kaplama işleminin ardından nanoparçacıklar X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ve Termogravimetrik Analiz (TGA) ile karakterize edildi. Şablon molekülü olarak L-Boc-fenilalanin anilid kullanılarak 2 saat polimerizasyon gerçekleştirilerek elde edilen nanoparçacıklar YPR sisteminde kullanılmak üzere altın alttaş üzerine sabitlendi. Hazırlanan sensör

performansı, analit (L-BFA) ve 3 farklı (L-TRP, L-TRY ve L-PHE) analog molekülün seçiciliği ile test edildi. Aynı zamanda farklı derişimlerdeki analit molekülünün meydana getirdiği plazmon rezonans açısındaki kayma miktarı takip edilerek Tespit Limiti 7 µM olarak hesaplandı. Tezin bir diğer bölümünde polietilen imin kaplanmış silika parçacıklar (MS-PEI) anyonik boya tutunmasında kullanıldılar. Tek tabaka (MS-APTES) ve polimer kaplı parçacıkların uygun pH, sıcaklık, temas süresi gibi parametrelerinin belirlenmesinin ardından desorpsiyon ve tekrar kullanılabilirlik testleri gerçekleştirildi. Polimer kaplı silika parçacıkların boya uzaklaştırma performansının tek tabaka içeren yüzeyler ile karşılaştırıldığında daha fazla aktif uç içermelerinden dolayı yüksek olduğu tespit edildi. Su artıma performansı incelenen parçacıkların geleneksel YPR düzeneğine uygun olarak hazırlanması ve kullanılması sayesinde hem uygulama hem de tespit sırasında aktif rol oynayabileceği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: RAFT polimerizasyonu, L-Boc-fenilalanin anilid sentezi, Silika nanoparçacık sentezi, Yüzey modifikasyonu, Yüzey karakterizasyonu, Yüzey plazmon rezonans biyosensörü

ABSTRACT

Doctor of Philosophy

DESIGN AND FABRICATION OF MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERIC MATERIALS FOR OPTICAL BIOSENSING APPLICATIONS

Zehra Oluz

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Micro and Nanotechnology Science Programme

Supervisor: Assoc. Prof. Hatice Duran Durmuş

Date: July 2019

In this study, molecularly imprinted polymers (MIP), which are highly promising in sensor applications, were produced on the surface of 100 nm silica nanoparticles to be tested in Surface Plasmon Spectroscopy. After the nanoparticle production was carried out by the Stöber method, the surface was prepared by 3-aminopropyl triethoxysilane (APTES) coating for further modification steps. After modifying the nanoparticle surface by initiator layer of 4,4'-azobiscyanopentanoic acid (ACPA), methacrylic acid (MAA) and ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) monomers were polymerized under UV light in presence of 2-phenylprop 2-yl dithiobenzoate (CDB) as RAFT agent via reversible addition-dissociation chain transfer polymerization (RAFT) which provides an efficient control of solution propagation and grafting process. Nanoparticles obtained by 2 hours of polymerization using L-Boc-phenylalanine anilide as template were fixed on gold substrate for use in SPR system. After each modification step, the nanoparticles were characterized by X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS), Scanning Electron Microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), Dynamic Light Scattering (DLS) and Thermogravimetric Analysis (TGA) for

chemical structure and surface topography analysis. Performances of the particles were followed by surface plasmon resonance spectroscopy (SPR) after coating the final product on gold deposited glass substrate against three different analogous of analyte molecules: L-Boc- tyrosine, L-Boc-tryptophan and L-Boc-phenylalanine. SPR spectroscopy is a primary method and it allows real time imaging of sensing even at very low template concentrations. These characterizations indicated that copolymer coated silica particles do contain binding sites for L-phenylalanine anilide, and Limit of Detection (LOD) were calculates as 7 μ M. In another part of this thesis, polyethylene imine coated silica particles (MS-PEI) were used for anionic dye removal. Desorption and reusability tests were performed after determining the appropriate pH, temperature, contact time parameters of monolayer (MS-APTES) and polymer coated particles. The dye removal performance of the polymer coated silica particles was found to be higher as they contained more active ends compared to monolayer containing surfaces. It has been shown that the particles tested for water remediation performance can be prepared for conventional SPR system and used for both application and detection purposes.

Keywords: RAFT polymerization, L-Boc-phenylalanine synthesis, Silica nanoparticle synthesis, Surface modification, Surface characterization, Surface plasmon rezonance biosensor

TEŞEKKÜR

Öncelikle danışman hocam Doç. Dr. Hatice Duran Durmuş'a, doktora eğitimimde bana yol gösterici ve destek olduğu, araştırmayı, bilimsel düşünme ve sorgulama tarzını paylaştığı için teşekkürü borç bilirim. Değerli görüşlerini esirgemeyen jüri üyelerimize, TİK komitemizde bulunan Prof. Dr. Ali Çırpan'a ve kendi çalışması hassasiyetinde problemleri çözmeye çalışarak her aşamada fikirlerini tüm samimiyetiyle paylaşan Doç. Dr. Fatih Büyükserin'e çok teşekkür ederim.

Bu uzun süreç boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, ne zaman tecrübesine başvurmamız gerekse değerli görüşüyle bize yol gösteren ve çalışmamızın RAFT ajanı sentez basamağında laboratuvar ortamını ve sahip olduğu bütün cihazları paylaşarak destek vermekten çekinmeyen kıymetli hocamız Prof. Dr. Tuncer Çaykara'ya minnetimi sunarım. Sentez boyunca tüm bilgi ve tecrübesini emeği ile benimle paylaşan, çalışma sonrasında da tüm nezaketi ile destek olan Talya Tuğana Kurşun'a çok teşekkür ederim.

İleri görüşlü ve sonsuz merhametli yapısıyla her anımda yaşadıklarımı benim kadar hissederek yanımda olan, kız çocuklarını okutmayan bir babanın kızlarıyken devrimci kişiliği ile yolumu açan ve yine dünyaya gelsem yine kendisinin kardeşi olmayı dileyebileceğim şu kâinattaki en kıymetlim olan ablama,
Zaman zaman eleştirse de desteğini hiç esirgemeyen fedakâr anneme, yaş farkımız çok olmasına ve araya giren mesafelere rağmen sevgilerini hissettiren abilerime, okuma fikrinden hoşlanmayan ama kızları bir şeyler başardıkça bunu insanlarla paylaşmaktan keyif alan babama,

Hayatımın şimdiye kadar ki en sıkıntılı yılları olan doktora sürecimi sırf onu tanımak pahasına tekrar yaşamayı göze alabileceğim canım arkadaştan ötem Eylül'e, varlığı huzur ve keyif veren Semih'e, korumacılığı ile bir anne paylaşımcılığı ile bir arkadaş olan Sema sultana,

Bu süreç boyunca kendi ruhumda ve dolayısıyla hayatımda yol almama yardımcı olan yol göstericim Dr. Şaziye Kazezoğlu Çevik'e,

Doktora süresince beni yalnız hissettirmemiş sıkıntımı, sevincimi ve hatta çalışmalarımı bile paylaşabildiğim Damla, Bilsen, Oğuz, Göktürk, Fatma, Sırma ve en uzun süreli, en ayna tutucu, en derin sohbetlere daldığımız ev arkadaşım Şebnem'e,
Önce öğrencim sonra arkadaşım olan Gözde ve Eylül dahil olmak üzere arkadaşlıklarıyla keyifli bir çalışma ortamı sağlayan gelmiş geçmiş bütün TOBB ETÜ MİNİERG Grubu üyeleri ve MNT öğrencilerine,

Tez yazma sürecim boyunca tüm ilgisini ve samimiyetini benimle paylaşan Marco Pasha çalışanlarına,

Tezimin gerçekleşmesinde 112M804 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a, sağladığı eğitim ve çalışma ortamı için TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesine,

Çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
KISALTMALAR	xvi
SEMBOL LİSTESİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	2
1.2 Moleküler Baskılanmış Polimerler	2
1.2.1 Fonksiyonel monomerler	3
1.2.2 Çapraz bağlayıcı monomerler	4
1.2.3 Çözücü seçimi	6
1.2.4 Baskılama türleri	7
1.2.5 Reaksiyon koşulları	10
1.3 Nanoyapılarda Moleküler Baskılama.....	10
1.3.1 Atom transfer radikal polimerizasyonu.....	11
1.3.2 Tersinir katılma-ayırılma zincir transferi polimerizasyonu	13
1.4 Nanoyapılarda Yüzeyle Moleküler Baskılama	17
1.4.1 Nanoçubuklarda moleküler baskılama.....	19
1.4.2 Nanokürelerde moleküler baskılama.....	28
1.5 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Biyosensör Uygulamaları	38
1.5.1 Elektrokimyasal biyosensörler	40
1.5.2 Kütleyle duyarlı biyosensörler	42
1.5.3 Optik biyosensörler	45
2. DENEYSEL GEREÇLER, YÖNTEMLER ve TEORİK HESAPLAMALAR	59
2.1 Gereçler	59
2.2 Cihazlar	59
2.2.1 Sentez işlemlerinde kullanılan cihazlar.....	59
2.2.2 Karakterizasyon amaçlı kullanılan cihazlar	60
2.3 Programlar.....	64
2.4 Nanoçubuk Yapıların Etkin Dielektrik Sabiti Hesaplamaları ve Dalga Kılavuzu Performans Simülasyonları.....	64
2.4.1 Siyanat ester monomeri.....	66
2.4.2 AAO üretimi	67
2.4.3 AAO gözenek doldurulması.....	68
2.4.4 Cam alttaş yüzey modifikasyonu	68
2.4.5 Siyanürat ester nanoçubukların hazırlanması.....	69

2.4.6	Altın kaplı nanoçubuk üretimi.....	70
2.5	Küresel Silika Nanoparçacık Üretimi	71
2.5.1	Nanoküre yapıların etkin dielektrik sabiti hesaplamaları, etkin ortam teorisi ve dalga kılavuzu performans simülasyonları.....	71
2.5.2	Silika nanoparçacık sentezi	76
2.5.3	Silika nanoparçacık yüzeyinin başlatıcı kimyasal ile modifikasyonu....	76
2.5.4	RAFT ajanı (2-Fenilprop 2-il Ditiyobenzoat) sentezi	77
2.5.5	Moleküler baskılama işlemi için şablon molekülü (L-fenilalanin anilid) sentezi	78
2.5.6	Silika nanoparçacık yüzeyinde raft polimerizasyonunun gerçekleştirilmesi ve moleküler baskılamanın uygulanması.....	79
2.5.7	Moleküler baskılanmış silika nanoparçacıkların altın yüzeyine sabitlenmesi.....	80
2.6	Mezogözenekli Silika Parçacık Sentezi (MS).....	81
2.6.1	Silika yüzeyinin APTES ile fonksiyonlandırılması (MS-APTES)	81
2.6.2	Silika yüzeyinin gluteraldehit ile fonksiyonlandırılması (MS-GA).....	81
2.6.3	Silika yüzeyinin dallanmış polietilenimin ile fonksiyonlandırılması (MS-PEI).....	81
2.6.4	Adsorpsiyon çalışmaları	81
2.7	Klasik YPR Cihazı Ölçümleri	82
2.8	Nanoeye YPR Cihazı Ölçümleri	86
2.8.1	Nanoeye YPR cihazı için performans katsayısı ölçümü	86
2.8.2	Sistamin Kaplı Altın Yüzeylerin Üretimi.....	86
2.8.3	Polimer film kaplı yüzeylerin optimizasyonu ve üretimi.....	86
3.	POLİSİYANAT ESTER NANOÇUBUK (PEN) DİZİLİMLERİNİN OPTİK DAVRANIŞLARI.....	89
4.	SİLİKA NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, YÜZEY MODİFİKASYONU VE KARAKTERİZASYONU.....	97
4.1	Silika Nanokürelerin Yüzeyinde RAFT Polimerizasyonu Yöntemi ile L-Boc-Fenilalanin Anilid Baskılanması ve Karakterizasyonu	97
4.1.1	Silika nanoparçacıkların üretimi ve başlatıcı tabakası ile kaplanması... 97	
4.1.2	RAFT ajanı karakterizasyonu.....	99
4.1.3	Şablon molekülü (L-fenilalanin anilid) karakterizasyonu.....	101
4.1.4	Silika nanoparçacıkların yüzeyinde raft polimerizasyonu gerçekleştirilmesi	104
5.	MOLEKÜLER BSKILI SİLİKA NANOPARÇACIKLARIN YÜZEY PLAZMON REZONANS (YPR) PERFORMANSLARI	113
5.1	Nanoeye Yüzey Plazmon Rezonans Düzenegi İçin Ara Yüzey Tasarımı ve Uygulamaları	113
5.1.1	Nanoeye yüzey plazmon rezonans cihazı için performans katsayısı ölçümü.....	114
5.1.2	Nanoeye yüzey plazmon rezonans cihazı ile sistamin moleküllerinin altın yüzeyinde kendiliğinden oluşan tekkatman meydana getirmesi	116
5.2	Geleneksel Yüzey Plazmon Rezonans Düzeneginin Moleküler Baskılı Nanoküreler İçin Ara Yüzey Tasarımı ve Biosensör Performansının İncelenmesi.....	120
5.2.1	Altın yüzeyini mbnk ile kaplama yönteminin belirlenmesi	120
5.2.2	Çapraz bağlayıcı monomer oranının optimizasyonu.....	122
5.2.3	Kinetik ölçüm koşullarının optimize edilmesi	123

5.3	MBNK YPR Spektrometresi ile Biyotarayıcı Uygulamaları.....	126
6.	FONKSİYONEL NANOPARÇACIKLARIN SUCUL ORTAMDAN KİRLETİCİLERİN UZAKLAŞTIRILMASI VE KİRLETİCİLERİN MİKTARININ YPR İLE TAYİNİ	135
6.1	Anyonik Boya Adsorpsiyon Çalışmaları	140
6.2	Yüzey Plazmon Rezonans Spektroskopisi ile Sucul Ortamda Anyonik Boya Miktarı Tayini	147
7.	SONUÇLAR	153
	KAYNAKLAR	157
	EKLER.....	171
	ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.1: Moleküler baskılama işleminin şematik gösterimi [9] 3
- Şekil 1.2: Fonksiyonel monomer örnekleri 4
- Şekil 1.3: Çapraz bağlayıcı monomer örnekleri 5
- Şekil 1.4: Wulff ve arkadaşlarının uyguladığı kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi [16] 9
- Şekil 1.5: Mosbach ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kovalent olmayan moleküler baskılamada etkin olan kuvvetlerin şematik olarak gösterimi: 11, iyonik; $\Phi\Phi$, hidrofobik; HH, hidrojen bağı; CC, yük transferi [17]. 9
- Şekil 1.6: ATRP'de kullanılan örnek başlatıcı ve metal kompleksleri [25]. 12
- Şekil 1.7: ATRP şematik olarak gösterimi [26]. 12
- Şekil 1.8: RAFT polimerizasyonu basamaklarının şematik gösterimi [29] 15
- Şekil 1.9: RAFT ajanı yapısı ve özellikleri 15
- Şekil 1.10: Yüzeye Raft ajanı sabitlenmesinin iki farklı yöntemi olan R ve Z grubu yaklaşımlarının şematik olarak gösterimi [35] 17
- Şekil 1.11: Baskılanmış yığın ve nanomalzemeler ile şablon molekül uzaklaştırılması ve tekrar bağlanması şematik gösterimi [34] 19
- Şekil 1.12: Nanoçubuk kökleri (a), büyütülmüş nanoçubukların iki farklı oranda büyütülmüş (b,c) ve melanin baskılanmış polimer kaplanmış TEM görüntüleri [45] 21
- Şekil 1.13: Elektrokimyasal analiz için ZNT desteklenmiş baskılanmış polimer üretim şeması [47] 23
- Şekil 1.14: Üretilen polimer-çinko (II) oksit hibrit yüzeylerin Aralıklı Atım Voltametri yöntemi ile elde edilen eğriler. Bakılanmamış polimer kaplı a) düzlemsel film b) ZNR c) ZNT, baskılanmış polimer kaplı d) düzlemsel film e) ZNR f) ZNT [47] 24
- Şekil 1.15: Kong ve arkadaşlarının magnetit parçacıklarının etrafını MBP ile kaplama basamaklarının şematik gösterimi [41]. 30
- Şekil 1.16: Sensör kaplamalarının 25 ppm derişimindeki farklı organik buharlara maruz bırakılmasının zamana göre normalize edilmiş KKM frekans cevabı [54]. 30
- Şekil 1.17: %50 nemli bir hava akımından kuru havaya geçiş sırasında baskılanmış ve baskılanmamış ince filmlerin zaman-frekans değişimi grafiği [55] 31
- Şekil 1.18: Alilamin içeren nanoparçacıkların %50 nem içeren ortamda formaldehite maruz bırakıldığında kaydedilen KKM cevabı [55] 32
- Şekil 1.19: Biyotin içeren moleküllerin bağlanmasının eşodaklı mikroskop ile karakterizasyonu. Manyetik MBP örneğine atto 665-biyotin kompleksinin bağlanması B ve C'de gösterilirken A kontrol grubu görüntüsünü içermektedir. Manyetik MBP örneğine G4 biyotin dendrimer ardından streptavidin-Cy5 ile inkübasyon E ve F'de, ayrıca seçici olmayan adsorpsiyon çalışması için D negatif kontrol D'de gösterilmektedir [59]. 38
- Şekil 1.20: Örnek elektrokimyasal sensör düzeneği şematik gösterimi [80]. 42

Şekil 1.21: Kuvars Kristal Mikrodenge (a) cihaz şeması [82] (b) sensrogram örneği [83]	43
Şekil 1.22: Lizozim baskılanmış KKM sensötünün Atomik Kuvvet Mikroskobu görüntüsü [84]	44
Şekil 1.23: Yüzey plazmon rezonans (a) Otto ve (b) Kretschmann konfigürasyonları [94]	49
Şekil 1.24: Bir dielektrik (a), prizma (b) ve metal-dielektrik arayüzündeki (c) fotonların dağılma ilişkisi	50
Şekil 1.25: Farklı geliş açılarında metal tabakası içerisindeki elektromanyetik alan kuvveti (a) ve 50 nm kalınlığındaki altın tabakasında meydana gelen alan güçlenmesi	51
Şekil 2.1: Çeşitli optik bileşenlerle birlikte (lazer, aynalar, lensler, pin-hole v.b.) SPR deney düzeneğinin teknik gösterimi (Bu düzenek dışarıdan bir masaüstü bilgisayar, adım motor kontrol ünitesi ve bir adet Lock-In amplifier cihazına bağlanmıştır).	63
Şekil 2.2: Nanoçubukların hesaplamalarda kullanılan ölçülerinin üretim şablonu olan anodik alümina membran geometrisi üzerinde gösterimi	64
Şekil 2.3: Siyanat ester monomeri kimyasal yapısı	67
Şekil 2.4: Fosforik, sülfürik ve okzalik asit içerisinde gerçekleştirilen AAO üretiminde çalışılan anodizasyon voltajına göre elde edilen gözenekler arası mesafenin grafik olarak gösterimi [109]	68
Şekil 2.5: Yüksek kırılma indisli cam üzerinde elde edilen polisianürat ester nanoçubukların üretimi	70
Şekil 2.6: Birim hacimde bulunan bir, iki ve üç tabaka halinde dizilmiş nanoparçacıkların şematik gösterimi	74
Şekil 2.7: RAFT ajanı sentez basamakları	77
Şekil 2.8: Filtre yüzeyinde kaplama işleminin şematik gösterimi	80
Şekil 2.9: Kretschmann yapılandırılması ve optik dalga kılavuz modları	82
Şekil 2.10: Optik Dalga Kılavuzu Spektroskopisi cihazının şematik gösterimi	83
Şekil 2.11: Yüzey Plazmon Rezonans cihazından elde edilen (a) geliş açısı-yansıma eğrisi örneği ile kritik noktaları ve (b) dalga kılavuzu modları	84
Şekil 2.12: Yüzey plazmon rezonans cihazı ile alınan (a) durgun (b) kinetik ölçümler [122]	85
Şekil 2.13: Moleküler etkileşim takibinde elde edilen tarama eğrisi ve alanları [122]	85
Şekil 3.1: Altın tabakasıyla kaplanmış siyanat ester nanoçubuklarının (a) 20, (b) 30 ve (c) 40 derece eğim açılı taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.	91
Şekil 3.2: Farklı kaplama açılarında kısmi altın kaplı siyanat ester nano çubukları ile 20° altın birikimi UV spektrumları (a) 35 nm (b) 65 nm (c)180 nm (d) 280 nm; Farklı kaplama açılarında kısmi altın kaplı nano çubukları UV spektrumları (e) 20° (f) 30°	92
Şekil 3.3: Farklı eğim açılarında (a) 30 ve (b) 40 derece açılarında kısmi altın kaplı siyanat ester nano çubukları UV spektrumları	93
Şekil 3.4: Ölçüm açısı 90 derece olan kısmi altın kaplı ve kaplanmamış nanoçubukların UV spektrumları	93
Şekil 3.5: 180/0,6 boyutlarındaki nanoçubukların alumina tabakası aşındırma (a) sırasında ve (b) sonrasındaki optik mikroskop görüntüleri ile (c) aşındırma sonrasındaki SEM görüntüsü	94

Şekil 3.6: 180/1 boyutlarındaki nanoçubukların alumina tabakası aşındırma (a) sırasında ve (b) sonrasındaki optik mikroskop görüntüleri ile (c) aşındırma sonrasındaki SEM görüntüsü.....	94
Şekil 3.7: Farklı döndürme açılarında elde edilen 180/0,6 boyutlu nanoçubukların UV spektrumları (a) aşındırma sırası ve sonrası (b) aşındırma sonrası	95
Şekil 3.8: (a) 20, (b) 30 ve (c) 40 derece açılarında altın kaplanan 180/1 boyutlu nanoçubukların UV spektrumları	96
Şekil 4.1: Yüzeyi (a) kaplanmamış, (b) APTES ve (c) başlatıcı tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü (Ölçek çubuğu tüm görüntüler için 500 nm'dir.)	98
Şekil 4.2: Yüzeyi (a) kaplanmamış, (b) APTES ve (c) başlatıcı tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Dinamik Işık Saçılması ölçümleri.....	99
Şekil 4.3: APTES (a, b) ve başlatıcı (c, d) tabakaları ile kaplanmış silika nanoparçacıkların yüksek çözünürlüklü C 1s (a, c) ve N 1s (b, d) XPS taramaları	100
Şekil 4.4: RAFT ajanı ditiyobenzoik asitin ¹ H NMR spektrumu	101
Şekil 4.5: RAFT ajanının kolon kromatografisi ile saflaştırılmasından (a) önce ve (b) sonra elde edilen ¹ H NMR spektrumları	101
Şekil 4.6: L- BOC-Fenilalanine anilid (L-BFA) molekülünün kimyasal yapısı.....	102
Şekil 4.7: L- BOC-Fenilalanine anilid (L-BFA) molekülünün ¹ H NMR spektrumu	103
Şekil 4.8: L-Fenilalanine anilid (L-FA) molekülünün ¹ H NMR spektrumu.....	103
Şekil 4.9: Yüzeyi azo-başlatıcı ile kaplanmış silika nanokürelerinin Geçirimli Elektron Mikroskobu görüntüleri (Ölçek çubuğu iki görüntü için 1 µm'dir.).....	104
Şekil 4.10: Yüzeyi (a) 1,5 saat ve (b) 2 saat boyunca polimer tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Dinamik Işık Saçılması ölçümleri.....	105
Şekil 4.11: Yüksek çözünürlüklü kükürt taraması spektrumları (a) 1,5 ve (b) 2 saat polimerizasyon süresi.....	106
Şekil 4.12: Yüzeyi kaplanmamış, APTES, başlatıcı tabakasıyla ve baskılanarak (MBNK) ve baskılanmadan (Si-Polimer) 2 saat polimerizasyon süresince kaplanmış silika nanoparçacıkların termogramı.....	107
Şekil 4.13: 2 saat boyunca polimerizasyona maruz bırakılan silika nanoparçacıkların yıkanma işlemi süresince uzaklaştırılan şablon molekülü derişimi (grafikte düz çizgi deneysel verilerin eğilimini takip edebilmek için kullanılmıştır).	108
Şekil 4.14: Yüzeyi kaplanmış silika nanokürelerinin XPS (a) yüzey (b) Au 4f (c) N 1s ve (d) Si 2p taramaları	109
Şekil 4.15: Altın yüzeye tutunmuş kopolimer kaplı nanoparçacıkların (a) şematik gösterimi; (b) 2-boyutlu (2D) 3ve (c) -boyutlu (3D) AFM görüntüleri ..	109
Şekil 4.16: Daldırmalı kaplama işlemi sonrasında altın yüzeyinin iki farklı bölgesinden alınmış optik mikroskop görüntüleri (x1000)	110
Şekil 4.17: Nanoparçacık derişimi 1 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü (e) beşinci (f) altıncı (g) yedinci (h) sekizinci kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü.....	110
Şekil 4.18: Nanoparçacık derişimi 5 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü.....	111

Şekil 4.19: Nanoparçacık derişimi 10 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü.....	111
Şekil 4.20: Nanoparçacık derişimi 7,5 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları (a) ikinci (b) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü	112
Şekil 5.1: Nanoeye YPR alet düzeni	113
Şekil 5.2: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin YPR eğrileri	115
Şekil 5.3: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin kinetik ölçüm eğrisi	116
Şekil 5.4: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin Geleneksel YPR ile alınan eğrileri.....	116
Şekil 5.5: Sistamin molekülünün kimyasal yapısı	117
Şekil 5.6: Sistamin çözeltisi (50 mM) ile saf altın yüzeyinde kendiliğinden oluşan tekkatman meydana getirmesinin YPR eğrileri ile takibi.....	118
Şekil 5.7: Sistamin tabakası ve ince kopolimer film kaplı altın yüzeylerin YPR eğrileri	119
Şekil 5.8: İnce kopolimer filmlerin etanol içerisinde bekletilmesi ile elde edilen YPR eğrileri (a) 15 ve (b) 20” kaplama süresi	120
Şekil 5.9: Döndürerek kaplama işlemi ile hazırlanmış örneğin (a) üç farklı noktadan ve (b) tek bir noktadan farklı zamanlarda elde edilen YPR taramaları ...	121
Şekil 5.10: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış (a) beş farklı yüzeyin ve (b) tek bir yüzeyin farklı noktalarından elde edilen YPR taramaları.....	122
Şekil 5.11: (a) 1:5 ve (b) 1:10 fonksiyonel monomer: çapraz bağlayıcı oranında hazırlanan kopolimer tabakası kaplanmış nanoparçacıkların altın yüzeyinde sabitlenmesinin ardından etanol içerisinde bekletilmesi süresince elde edilen YPR eğrileri	123
Şekil 5.12: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin (a) hava ve (b) etanol ortamında deneysel ve hesaplanmış YPR eğrileri (Siyah çizgi deneysel ve kırmızı çizgi teorik hesaplamala sonucu elde edilen eğrilerdir).....	124
Şekil 5.13: Sensörün seçiciliğini test etmek amacıyla kullanılan analog ve hedef (L-BFA) moleküllerin kimyasal yapıları	124
Şekil 5.14: 50 mM derişimde (a) Boc-Triptofan (B-Trp), (b) Boc-Tirosin (B-Try) ve (c) Boc- Fenilalanin moleküllerinin MBNK sistemine CH ₃ OH: H ₂ O ortamında tutunma kinetiği.....	125
Şekil 5.15: Farklı metanol:su oranlarında 1 mM L-BFA tutunmasının kinetik ölçüm sonuçları (a) 1:1, (b) 2:1 ve (c) 3:1.	125
Şekil 5.16: Baskılanmamış polimer kaplı silika nanoparçacık (No-MBNK) içeren sensörün hava ortamında deneysel (siyah çizgi) ve hesaplanmış (kırmızı çizgi)YPR eğrileri.....	127
Şekil 5.17: 2 mM derişimde L-BFA ve benzer moleküllerin No-MBNK tutunma kinetiği.....	128
Şekil 5.18: No-MBNK’in çözelti ortamında her bir molekülün ve bütün kinetik ölçümün öncesi ve sonrasında elde edilen YPR eğrileri	129
Şekil 5.19: Baskılanmış polimer kaplı silika nanoparçacıkların (MBNK) sensör yüzeyine sabitlenmeden önce (a) ve sonraki (b) hava ortamında deneysel ve hesaplanmış YPR eğrileri	130
Şekil 5.20: 2 mM derişimde analit (a) ve analog (b) moleküllerinin MBNK sistemine tutunma kinetiği ile (c) seçicilik grafiği. (Sablon ve analog moleküllerin nanokürelerle etkileşimi sonucu oluşan kırılma indisi değişimi farkının açık	

olarak gözlenebilmesi için a ve b grafiklerinin y-eksenleri eşit tutulmuştur.)	131
Şekil 5.21: MBNK'in çözelti ortamında her bir molekülün ve bütün kinetik ölçümün öncesi ve sonrasında elde edilen YPR eğrileri	132
Şekil 5.22: Farklı derişimlere sensörün verdiği cevap ile oluşturulan Tespit Limiti (LOD) hesaplama eğrisi	133
Şekil 6.1: Tek tabaka (MS-APTES) ve dallanmış polimer (MS-PEI) kaplı mezogözenekli silika parçacıkların üretim basamaklarının şematik gösterimi	137
Şekil 6.2: (a) Ham, (b) gluteraldehit ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait ATR-FTIR spektrumları	138
Şekil 6.3: (a) Ham, (b) gluteraldehit ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait XPS taramaları	139
Şekil 6.4: (a) Ham, (b) APTES ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait TEM görüntüleri	139
Şekil 6.5: Ortamda bulunan adsorban miktarının (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi	140
Şekil 6.6: Temas süresinin (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi	141
Şekil 6.7: Sıcaklığın (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi	142
Şekil 6.8: pH'nın (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi	142
Şekil 6.9: Farklı çözücülerin boyaların desorpsiyonu üzerindeki etkisi (a) ARS (b) XO	146
Şekil 6.10: pH'nın boyaların desorpsiyonu üzerindeki etkisi (a) ARS, (b) XO	147
Şekil 6.11: Lipoik asitin kimyasal yapısı	147
Şekil 6.12: Saf, lipoik asit ve MS-PEI kaplı altın alttaşının YPR eğrileri	148
Şekil 6.13: Saf altın yüzeyine (a) MO (anyonik) ve (b) MB (katyonik) boya tutunmasının kinetiği	148
Şekil 6.14: Üç farklı anyonik boyanın MS-PEI içeren sensör yüzeyine adsorplanmasının kinetiği	149
Şekil 6.15: 2,5 mM derişimde ARS boyasının kinetik ölçümü	150
Şekil 6.16: Farklı derişimlere sensörün verdiği cevap ile oluşturulan Tespit Limiti (LOD) hesaplama eğrisi	151

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1: Farklı boyuttaki nanoçubukların çubuklararası mesafe, hacim oranları ile hava, su ve PBS ortamındaki dielektrik sabiti değerleri.....	66
Çizelge 2: Tek tabaka olarak kaplanmış farklı boyuttaki nanoparçacıkların boşluk hacim fraksiyonları ile hava, su ve PBS ortamındaki dielektrik sabiti değerleri.....	76
Çizelge 3: Saf ve modifiye edilmiş silika nanoparçacık yüzeylerinin XPS yöntemi sonucunda elde edilen atom oranları	105
Çizelge 4: Saf ve modifiye edilmiş silika nanoparçacık yüzeylerinin BET teorisi ile hesaplanan yüzey alanları.....	107
Çizelge 5: BK7 cam üzerine kaplanan film kalınlıkları.....	118
Çizelge 6: Prosedür optimizasyonu ardından elde edilen film kalınlıkları.....	119
Çizelge 7: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin hava ortamında hesaplanmış YPR eğri parametreleri	124
Çizelge 8: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin etanol ortamında hesaplanmış YPR eğri parametreleri	124
Çizelge 9: No-MBNK içeren sensör sisteminin içerdiği her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri	127
Çizelge 10: Saf altın yüzeyi içeren sistemde bulunan her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri	130
Çizelge 11: MBNK içeren sensör sisteminin içerdiği her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri	130
Çizelge 12: 5 farklı derişimdeki LBFA ile meydana gelen rezonans açısı değişimi	132
Çizelge 13: MS-APTES ve MS-PEI için Langmuir ve Freundlich izotermeleri parametreleri.....	143
Çizelge 14 MS-APTES ve MS-PEI için yalanci birinci dereceden ve yalanci ikinci dereceden adsorpsiyon kinetik parametreleri	145
Çizelge 15 MS-APTES ve MS-PEI için yalanci birinci dereceden ve yalanci ikinci dereceden adsorpsiyon kinetik parametreleri	145
Çizelge 16: 5 farklı derişimdeki ARS ile meydana gelen rezonans açısı değişimi..	150

KISALTMALAR

MBP	: Moleküler Baskılanmış Polimerler
YPR	: Yüzey Plazmon Rezonans Spektroskopisi
EDMA	: Etilen Glikol Dimetakrilat
MAA	: Metakrilik Asit
OM	: Optik Mikroskop
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
ATRP	: Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
RAFT	: Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transferi Polimerizasyonu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
XPS	: X-Işım Fotoelektron Spektroskopisi
EMT	: Etkin Ortam Teorisi
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
----------	----------

T	Sıcaklık
α	Baskılama faktörü
ρ	Yoğunluk

1. GİRİŞ

Biyolojik ve tıbbi alanlarda biyomoleküllerin nicel ölçümleri ve karakterizasyonunda kullanılan biyosensörler ve bioçiplerin gelişmesinde son yıllarda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Spesifik biyolojik tanıma elemanlarının fiziksel bir dönüştürücüye bağlanması ile oluşturulan biyosensörler sayısız biyomedikal ve çevresel olayın takip edilmesi ve taranmasında büyük umut vaat ederler. Biyo-algılama cihazlarındaki hızlı gelişmelere rağmen bu alandaki ilerleme beklenenden yavaştır. Bu cihazların sadece çok küçük bir bölümü başarıyla ticarileştirilebilmiştir [1]. Biyotarayıcıların performansını tanımlamak için kullanılan anahtar parametreler arasında moleküler seçicilik, duyarlılık [2], sağlamlık ve yeniden kullanılabilirlik sayılabilir [3]. Bu şartları yerine getirebilen çeşitli biyosensör türleri piyasada mevcuttur. Bu türlerin arasında antikor-antijen afinitesine dayalı olanlar pratiklikleri düşük, dayanıklıları ve genel bağlayıcı özellikleri sınırlı olsa da en yaygın olarak kullanılanlardır [2]. Bütün bunların yanı sıra son yıllarda, biyosensörlerin minyatürleştirilmesine doğru önemli bir eğilim oluşmuştur. Ayrıca, seri olarak üretilen ve düşük maliyetli, tek kullanımlık dönüştürücülere de ihtiyaç vardır. Bu özellikler çevresel ve biyomedikal analizler için oldukça önemlidir [4]. Düşük maliyeti ve hazırlama kolaylığı gibi özelliklerinden dolayı moleküler baskılama yöntemi bu amaca hizmet eden bir teknik olarak giderek yaygınlaşmaktadır [5].

Alternatif bir dönüştürücü ara yüzey malzemesi olarak Moleküler Baskılanmış Polimerler (MBP) üstün tanıma kapasitelerinin yanı sıra, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı da biyotarayıcı uygulamaları için son derece cazip seçeneklerdir. Örneğin, MBP'ler mekanik strese, yüksek sıcaklıklara ve basınca, çeşitli çözücülere, asit, baz ya da metal iyonlarına karşı olağanüstü bir direnç gösterebilirler [2–5] ve oda sıcaklığında uzun süreler boyunca kuru bir halde saklanabilirler [5].

1.1 Tezin Amacı

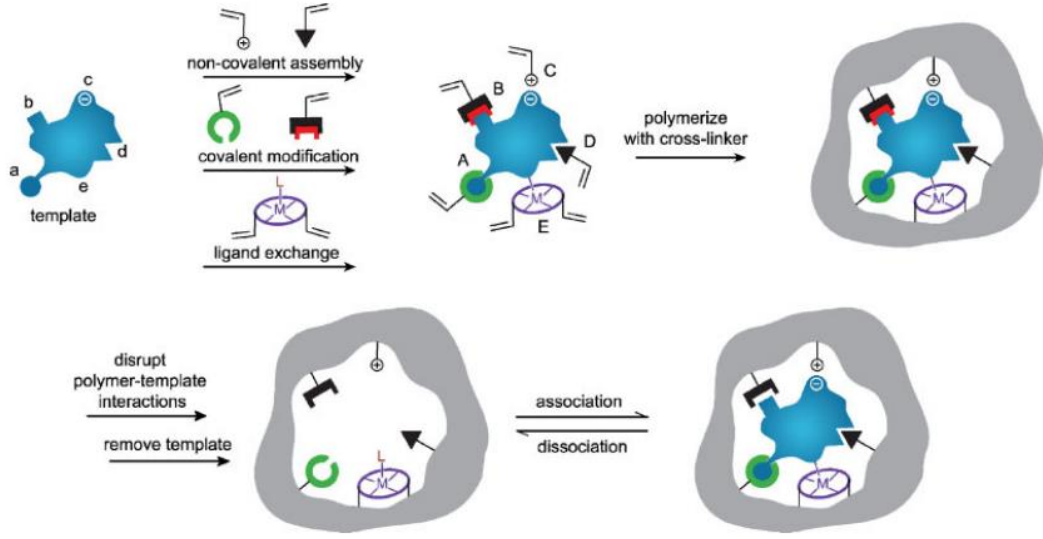
Nano boyutta, polimerlerden oluşan ya da polimer içeren kompozit yapıların algılayıcı özellikleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça yaygınlaşmıştır [6–8]. Bu sistemlerin Geleneksel Yüzey Plazmon Rezonans Spektrometresi (YPR) ve yeni geliştirilen FleXPR YPR düzenekleri ile optik algılayıcı performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır. Buna ek olarak kompozit malzemede kullanılan polimer türünün değiştirilmesi ile uygulama alanında çeşitlilik elde etmek ve su arıtmada etkin hale getirmek hedeflenmiştir.

1.2 Moleküler Baskılanmış Polimerler

Moleküler baskılama yönteminin temeli, bir şablon molekülü ile fonksiyonel monomerin uygun çözücü içerisinde kompleks oluşturmasının ardından çapraz bağlı polimerleşme reaksiyonunun gerçekleştirilmesine dayanır. Şablon molekülün uzaklaştırılmasının ardından, baskılanmış malzemenin üç boyutlu şekil ve moleküler konumu korunarak, algılama için uygun bağlanma noktaları elde edilir (Şekil 1.1). Şablon ve fonksiyonel monomer arasında oluşan etkileşim birkaç şekilde gerçekleşebilir A) tersinir kovalent bağlanma, B) kovalent bağlı bir fonksiyonel grubun şablon molekülünün ayrılmasından sonra geriye kovalent olmayan bağlanma yerleri bırakması, C) elektrostatik etkileşim, D) hidrofobik veya van der Waals etkileşimleri veya E) bir metal merkezli ligand ile koordinasyon [9].

Şekle ve fonksiyonel gruplara göre seçici özellik taşıyan bu tamamlayıcı boşluklar *in vitro* tanı-tedavi ve ayırma uygulamalarında önemli yer tutmaktadır. Yığın haldeki MBP'lerin sentezlerinin dar ölçekli oluşu ve optimizasyon zorluğu sebepleriyle son yıllarda yapılan çalışmalarla daha pratik sentez yöntemleri halen geliştirilmeye çalışılmaktadır [6,7].

Seçici moleküler tanıma kabiliyetine sahip sentetik malzemeler olan MBP'lerin üretiminde en az bir fonksiyonel monomer ile çapraz bağlayıcı monomer kullanılır ve bu monomerler şablon molekülü varlığında polimerleştirilir. Fonksiyonel monomer, çapraz bağlanma reaksiyonu sırasında kararlı bir kompleks oluşturmak üzere şablon molekülüyle etkileşime girer. Polimerizasyondan sonra şablon ortamdan uzaklaştırılır ve MBP bünyesinde şablon yapısını tamamlayıcı bağlama alanları elde edilir [8].

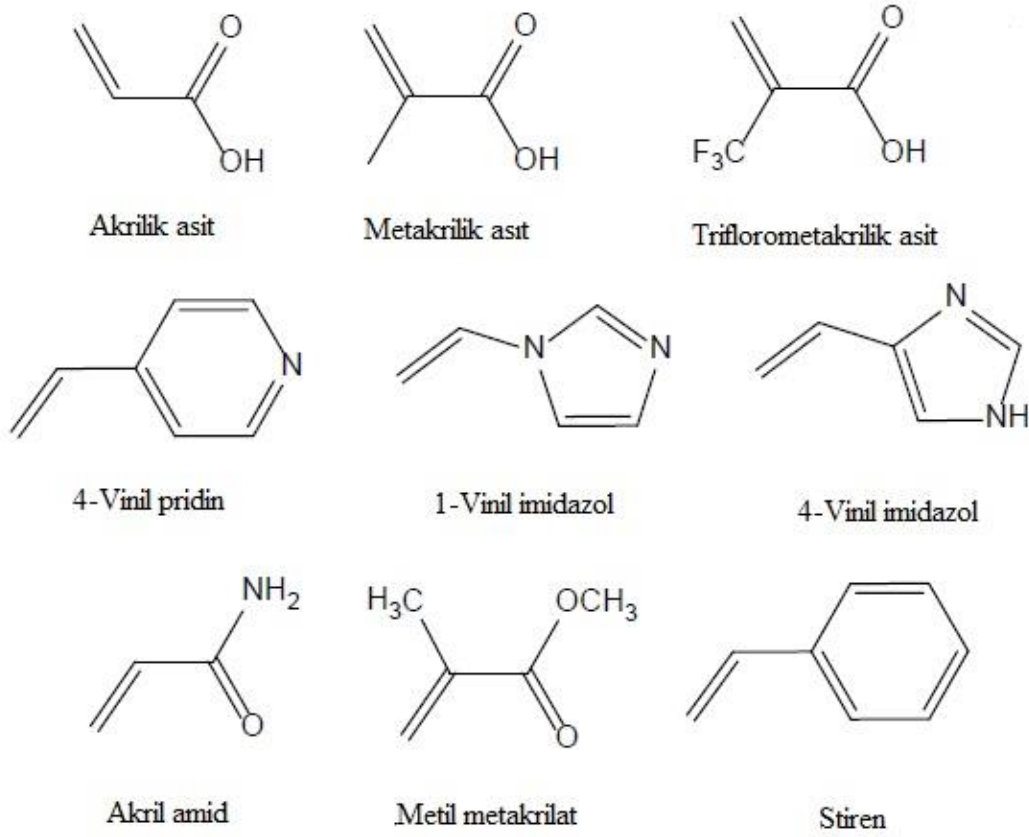


Şekil 1.1: Moleküler baskılama işleminin şematik gösterimi [9]

1.2.1 Fonksiyonel monomerler

MBP hazırlanması için geniş bir yelpazede fonksiyonel monomerler ve çapraz bağlayıcılar kullanılmıştır (Şekil 1.2). Fonksiyonel monomerlerin seçiminde, baskılanılması planlanan molekülün kimyasal yapısı ve işlevselliği önemli rol oynar. Fonksiyonel monomerler, hedef molekülün bağlanmasında rol oynayan etkileşimlerden sorumlu fonksiyonel grupları içermelidir [10]. En yaygın şekilde kullanılan monomer olan metakrilik asit iyonik etkileşimler ve hidrojen bağı yoluyla aminler, amidler, karbamatlar ve karboksilik asitler ile etkileşime girer. Baskılama sisteminde kullanılan monomerler ve baskı molekülleri karıştırıldıklarında kendiliğinden bir araya gelirler ve meydana gelen kompleks yapının sertliği polimerin seçiciliği için önemli bir rol oynar. Bu nedenle farklı işlev ve türdeki baskı molekülleri için en uygun monomerlerin bulunması kritik bir araştırma alanıdır [11].

Bazı baskı molekülleri için vinil piridin, akrilik asit veya akrilamid ile hazırlanan polimerlerin, metakrilik asitten elde edilen polimerlere kıyasla daha yüksek seçicilik ve afinite gösterdiği gözlenmiştir. Farklı fonksiyonel gruplara sahip monomerler ticari olarak elde edilebilirken şablon moleküllerinin içerdiği kimyasal gruplar göz önünde bulundurularak spesifik olarak sentezlenebilmeleri de mümkündür. Çeşitli durumlarda, birbiriyle etkileşime girebilen birden fazla fonksiyonel monomerden oluşan MBP'lerin, yalnızca tek tip monomerden hazırlananlara kıyasla daha iyi tanıma özelliklerine sahip sistemler oluşturduğu görülmüştür [10,11].



Şekil 1.2: Fonksiyonel monomer örnekleri

1.2.2 Çapraz bağlayıcı monomerler

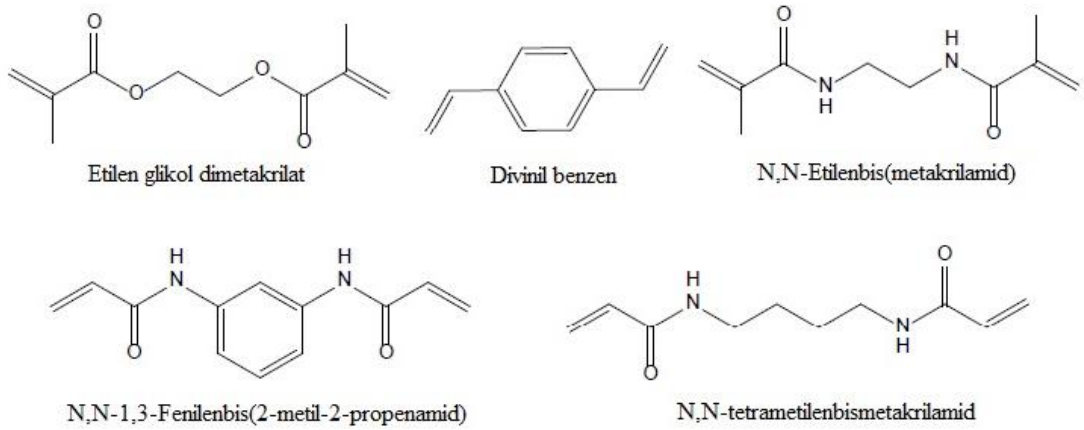
Baskılanmış alanların geometrisi ve fonksiyonel grupların doğru konumlanması yalnızca güçlü bir polimer ağı sayesinde sağlanabilir. Bu nedenle MBP'ler üretilirken genellikle çapraz bağlayıcı monomerler yüksek oranda kullanılır. Bu durum polimerlerin en çekici özelliklerinden birisi olan yüksek mekanik kararlılığı beraberinde getirir [11]. Çapraz bağlayıcı monomerler, aynı zamanda MBP'leri çözücülere karşı da dayanıklı hale getirerek pratik uygulamalarını kolaylaştırırlar. Farklı çapraz bağlayıcıların kullanılmasıyla, şablon molekülü bağlanma noktalarının yapısı ve kimyasal çevresi kontrol edilebilir [12].

Baskılama işleminin etkin bir şekilde gerçekleşebilmesi için, çapraz bağlayıcı ve fonksiyonel monomerlerin reaktiflikleri benzer olmalıdır. Aksi takdirde polimerleşme monomerlerin bir tanesi (fonksiyonel veya çapraz bağlayıcı monomer) daha baskın olacak şekilde gerçekleşir ve kopolimerizasyon başarılı bir şekilde elde edilemez. Uygun bir çapraz bağlayıcı monomer seçildiğinde kopolimerizasyon rasgele başarılı

bir şekilde gerçekleşir ve fonksiyonel kalıntılar polimer ağında düzgün bir şekilde dağılır [11].

MBP'lerin başarılı bir şekilde üretilmelerinde çapraz bağlayıcı monomerin molünün fonksiyonel monomer molüne oranı da önemli bir rol oynamaktadır. Oran çok düşükse, baskılanmış bölgeler jelimsi bir polimer yapıya gömülü olarak, birbirlerine çok yakın konumlanırlar ve bu sebeple bir bölgeye hedef molekülün bağlanması komşu bölgelere bağlanmayı engelleyebilir. Mol oranı yüksek tutulduğunda ise mekanik olarak dayanıklı, yüksek yüzey alanlı ve kalıcı gözenekli yapıda kopolimerler elde edilebilmektedir. Bu oran monomerler ve şablon molekülü kovalent olmayan etkileşimler gösterdiğinde %80'i aşarsa, şişme özelliğini kaybetmiş katı polimer oluşumuna yol açtığından, baskılama işleminin etkinliği zarar görebilmektedir [10–12].

Çapraz bağlayıcı monomerler arasında en sık karşılaşılan kimyasallardan bir tanesi Etilen glikol dimetakrilat (EDMA)'tır (Şekil 1.3). Bunun yanı sıra, trimetilolpropan trimetakrilat (TRIM) ve pentaeritritol triakrilat (PETRA) gibi üç işlevli çapraz bağlayıcılar ile elde edilen MBP'lerin, EDMA ile hazırlanan polimerlere göre etkenlik ve yük kapasitesi açısından daha üstün olduğu gözlenmiştir. Ayrıca EDMA ile hazırlanan MBP'lere göre daha gözenekli karaktere sahip oldukları görülmüştür [11].



Şekil 1.3: Çapraz bağlayıcı monomer örnekleri

1.2.3 Çözücü seçimi

Çözücülerin en alışlagelmiş rolleri reaksiyon ortamında bulunan her bir kimyasalı ve lokal ısı artışını homojen olarak dağıtmalarıdır [12]. Fakat MBP'lerin üretiminde daha kritik bir öneme sahiptirler. Kullanılan çözücünün türü son aşamada elde edilen polimerin yapısını ve etkinliğini belirlemektedir. Büyüyen polimerin polimerizasyon ortamındaki çözünürlüğü bu konu hakkında aydınlatıcıdır. Üretim sırasında kullanılan çözücü poröjen ise polimer çökme eğilimde, seyreltici ise çözünme eğiliminde olur. Bu durum MBP'lerin çapraz bağlanma noktalarının homojen dağılımı ve baskılı boşlukların stokiometrisini belirler. Ayrıca tercih edilen çözücünün hacim kontrolü ile büyümekte olan parçacıkların boyutu ayarlanabilir [10].

Baskılanmış polimerlerin gözenekli yapıda oluşturulabilmesi hedef moleküllerinin bağlanabileceği bölge sayısını artırır. Ayrıca bu yapı, üretimden sonra şablon moleküllerinin uzaklaştırılmasında da kolaylık sağlar. Polimerizasyon sırasında, büyüyen parçacıkların içine dahil edilen çözücü molekülleri reaksiyon bitiminde uzaklaştırıldığında istenilen gözenekli yapı elde edilir [12]. Yeniden bağlanma işlemi sırasında kullanılan çözücü, polimerizasyon sırasında kullanılan ile aynı olduğu takdirde MBP'lerin maksimum oranda etkinlik gösterdiği gözlenmiştir. Bu durumu elde edebilmek için çözücüler MBP'lerin kullanılacağı ortam da göz önünde bulundurularak seçilmelidir. Apolar çözücüler hidrojen bağı oluşumunu artırırken, hidrofobik kuvvetler yardımıyla kompleks oluşumu elde edebilmek için polar çözücüler tercih edilmelidir [10].

Baskılama türleri de çözücü seçiminde önemli bir rol oynar. Kovalent baskılama yönteminde tüm bileşenleri homojen olarak çözdüğü sürece birçok çözücü kullanılabilir. Kovalent olmayan baskılarda çözücü seçimi, fonksiyonel monomer ve şablon moleküllerinin kovalent olmayan yollarla etkileşimini ve böylelikle baskılama verimini arttırmak için, daha kritiktir. Kloroform, birçok monomeri ve şablon moleküllerini çözebilmesi ve hidrojen bağı oluşumunu baskılamaması sebebiyle, en yaygın kullanılan çözücülerden birisidir. Karbon tetraklorür ise çözücü transfer ajanı olarak davrandığından polimerlerin molekül ağırlığını düşürme eğilimindedir. Bu sebeple birkaç istisnai durum dışında moleküler baskılama için uygun değildir. Bununla birlikte, çözücülerin depolama sırasında bozunmaması için stabilizatör

kullanılanılma durumu takip edilmelidir. Çözücü kullanımı öncesinde stabilizatör varsa damıtma işlemi uygulanmalıdır [12].

Organik çözücülerin kullanımı peptit, oligonükleotid ve şeker gibi bazı şablon molekülleri ile uyumluluk sorunlarından kaynaklı olarak sınırlanabilir. Ayrıca, ilaç taşınımı uygulamaları göz önünde bulundurulduğunda, organik çözücü kalıntıları sıkıntı çıkarmaktadır. Dolayısıyla, su içerisinde moleküler baskılama uygulamaları giderek önem kazanmaktadır [13]. Polar ortamda elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşimlerinin zayıflaması bu yöntemi gerçekleştirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple hidrofobik etkileşim ve metal koordinasyon bağlarının uygun kombinasyonları gözlenerek sınırlamaların üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır [14].

1.2.4 Baskılama türleri

Polimerizasyon sırasında yerinde oluşturulan tanıma bölgeleri, şablon moleküllerinin baskılanacak polimer ile kovalent ya da kovalent olmayan etkileşime girmesiyle elde edilir. Yukarıda bahsedilen fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı monomerlerin polimerize edilemeyen bir şablon molekülü varlığında sentezlenmesi, kovalent olmayan baskılama işlemidir [15]. Baskılı polimer, moleküllere H-bağı, van-der-Waals kuvvetleri, p-p etkileşimleri ve yüklü bileşikler kullanılıyorsa elektrostatik etkileşimler ile kovalent olmayan yollarla spesifik olarak bağlanır. Polimerlerin reseptör benzeri bağlanma alanlarının fiziksel yapısı, kullanılan şablon moleküllerinin şekli ve işlevsel birimlerinin üç boyutlu düzenlemesi ile kalıplanır. Böylece, enantiyoseçici olabilen polimerler üretilebilmektedir [5].

1.2.4.1 Kovalent baskılama

Kovalent baskılama durumunda şablon molekülü monomer ve çapraz bağlayıcı ile kopolimerleşmeye tabi tutulur. Polimerizasyon sonrasında şablon molekülünü uzaklaştırma işlemi yeni bir kimyasal reaksiyon işlemi ile gerçekleştirilir . Moleküler baskılama sistemi için şartlar, kovalent olmayana kıyasla kovalent baskılama için daha katıdır. Çünkü kovalent baskılama her polimer sistemi için özel şablon türevlerinin sentezini gerektirirken, kovalent olmayan baskı, genel olarak tüm çözelti ortamında karışabilir moleküler şablonlar ve monomer sistemleri için kullanılabilir. Poli [(metakrilik asit) -ko- (etilen glikol dimetakrilat)] gibi akrilik polimerler ve

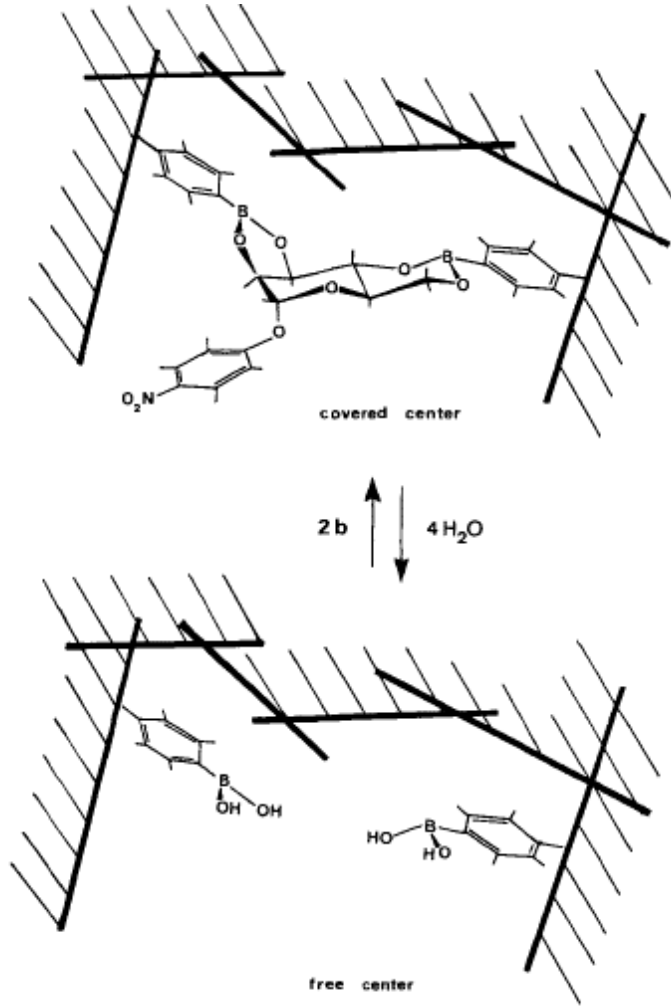
kopolimerler; kiral amino asitler, ilaçlar, gübreler ve peptitler gibi şablonların büyük bir kısmı başarıyla moleküler olarak baskılanmıştır [5].

İlk kovalent baskılama işlemi Wulff ve arkadaşları tarafından 1977'de uygulanmıştır [16]. Grup p-vinilbenzenboronik asit ve 4-nitrofenil-a-D-manopiranozid çiftini kalıp olarak kullanırken, metil metakrilat ve etilen dimetakrilatı da monomer olarak tercih etmişlerdir. Polimerizasyonun ardından boronik asit ester bölümünün ayrılmasıyla 4-nitrofenil-a-D-manopiranozid yapıdan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen baskılanmış polimere bu şekerin beklenildiği gibi güçlü ve seçici olarak bağlandığı gözlenmiştir (Şekil 1.4). Şablonun yapısı kovalent çift içerisindeki iki borik asit grubunun ortak konformasyonu sayesinde polimer ağı içinde sabitlenmesi sağlanmıştır.

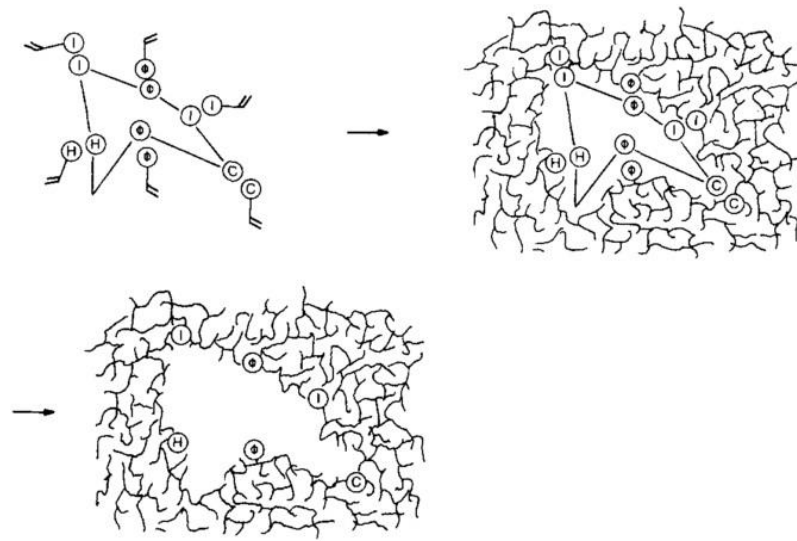
Kovalent baskılama işleminde monomer-şablon çiftleri dengeli ve stokiyometrikdir. Böylece moleküler baskılama işlemleri nispeten anlaşılır ve nettir. Fakat bu durum beraberinde monomer-şablon çifti sentezi gerekliliğini de getirir. Bu durum, yöntemi ekonomik ve pratik olarak zorlaştırır da çiftler zaten kovalent bağlı oldukları için çok çeşitli polimerizasyon koşullarını (yüksek sıcaklık, yüksek ya da düşük pH, polar çözücü gibi) uygulayabilmeye açıktır. Kovalent bağlanma bu açıdan avantaj sağlasa da şablon molekülünün uzaklaştırılması, hedef molekülün bağlanması gibi basamakların da yavaş olmasına sebep olmaktadır [12].

1.2.4.2 Kovalent olmayan baskılama

Kovalent baskılama işleminin tersine, bu baskılama tekniği şablon molekülünün hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşim gibi kovalent olmayan bir çift oluşturulması yardımıyla iskelet polimer tabakasında kavite oluşturma temeline dayanmaktadır. 1981'de Mosbach ve arkadaşları, fonksiyonel monomer ve şablon arasındaki kovalent bağların moleküler baskılama için olmazsa olmaz bir yol olmadığını ve bu çiftin kovalent olmayan etkileşimlerle de çalışabildiğini göstermiştir [17]. Metakrilik asidin teofilin (bir ilaç çeşidi) ile baskılanması bu yöntem ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.5). Aynı strateji sonrasında farklı ilaç, insektisit ve pratikte önemli kimyasalların baskılanmasında da başarıyla uygulanmıştır. Yöntemin basitliği araştırmacıları başlangıçta şaşırttıysa da geniş bir molekül yelpazesinde uygulanabilirliği çalışmaların sayısının artmasına yol açmıştır [12].



Şekil 1.4: Wulff ve arkadaşlarının uyguladığı kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi [16]



Şekil 1.5: Mosbach ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kovalent olmayan moleküler baskılamada etkin olan kuvvetlerin şematik olarak gösterimi: 11, iyonik; $\Phi\Phi$, hidrofobik; HH, hidrojen bağı; CC, yük transferi [17].

Bu yöntem sayesinde kovalent monomer-şablon çiftlerinin sentezi bir gereklilik olmaktan çıkmış ve şablon molekülünün sistemden ayrılması daha ılımlı koşullarda gerçekleştirilebilmiştir. Kovalent baskılama işlemine göre reaksiyon ortamında daha kararsız olarak bulunan monomer-şablon çiftinin, baskılamanın başarılı olması için en uygun polimerizasyon koşullarında dengede tutulabilmesi önemlidir. Bu koşullar sağlanabildiği takdirde hedef molekülünün bağlanıp ayrılmasının oldukça kolay gerçekleştirilebildiği bir sistem elde edilebilir [12].

1.2.5 Reaksiyon koşulları

MBP'ler yüksek sıcaklık (<180 °C), basınç ve pH değerlerine dayanıklı olabildikleri gibi çok çeşitli maddeler için sentezlenebilirler. Ayrıca hem organik hem de sulu çözücüler içinde üretilebilir ve kullanılabilirler. Ancak sulu çözeltilerde baskılama işlemi organik çözücülere göre daha zordur ve henüz standart bir üretim yöntemi belirlenmemiştir. Klasik yöntemlerde, MBP'ler genellikle bir bütün olarak yığın şeklinde üretilir, sonrasında ise öğütülüp elenerek çeşitli uygulamalar için uygun boyutta (tipik olarak 5-50 mm) partikül/pellet şeklinde hazırlanır [6]. Zaman alıcı olan bu yöntem ile genellikle %50'den az verimde MBP'ler elde edilir. Aynı zamanda parçacıkların boyutunun geniş bir aralığa ($\geq 100 \mu\text{m}$) sahip olması ve şeklinin düzensizliği de analit molekülünün bağlanmasını zorlaştırır [8].

Baskılı bölgeler heterojen olup, yüksek bağlanma eğilimli etkileşimler oluşturmak için önemli miktarda şablon molekülleri kullanmak gereklidir. Ayrıca bu yöntem zayıf ısı dağılımı nedeniyle endüstriyel uygulamalar için uygun değildir. Polimerizasyon reaksiyonları ekzotermiktir; bu nedenle, büyük hacimler için sıcaklığın artması, yüksek basınç ve çözücülerin kaynaması patlamalara neden olabilir. Bu sebeplerle araştırmacılar üretilen MBP'lerin bağlama performansını arttırmak için çalışmanın yanı sıra, düzenli olarak şekillendirilmiş ve homojen bir şekilde hazırlanabilen MBP'ler elde edebilmek adına ya yüzeyde moleküler baskılma veya nano ölçekte MBP üretmeye yönelmişlerdir [6,8].

1.3 Nanoyapılarda Moleküler Baskılama

Bütün olarak yığın halinde sentezlenmiş MBP'lerin aksine, nanoparçacıklar daha yüksek yüzey alanı/hacim oranlarına sahiptir. Böylelikle, şablon molekülleri baskılı

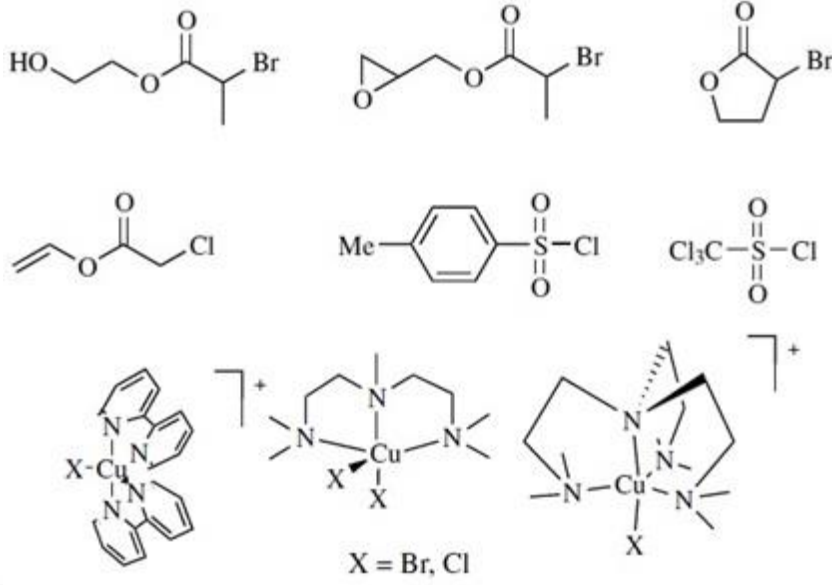
boşluklara daha kolay erişebilir ve bağlanma kinetiği geliştirilir. Bu yöntem, yüzey baskısı stratejileri ile daha çok uyumaktadır. Fakat nano boyutta MBP üretimi de kolay bir süreç değildir. Çapraz bağlanma derecesi ve güçlü şablon-monomer etkileşimlerinin gerekliliği gibi özellikler, MBP nanoparçacık üretimi için uygun protokollerin seçimini daraltabilir [6].

Yığın polimerizasyonunda, reaksiyon ortamında bulunan radikallerin reaktivliklerinin yüksek olmasından dolayı zincirin büyüme ve sonlandırılması basamakalarını kontrol etmek oldukça zordur. Bu da polimer ağı yapısında çeşitli kusurlar oluşmasına sebebiyet verebilir. Baskılanmış polimerlerin ağ yapıları içerisindeki bu heterojenlikler, düşük bağlanma kapasiteli bölgeler oluşmasına sebep olarak baskılı polimerin kalitesini düşürür [18].

Nanoyapılarda moleküler baskılama yığın polimerizasyonu ile gerçekleştirildiğinde karşılaşılan problemlerin bir çoğunun Yaşayan Radikal Polimerizasyonu (YRP) yöntemleri ile aşılabildiği görülmüştür. YRP ile üretilen polimerlerin ağ yapılarının daha homojen olduğu ve daha iyi bağlanma elde edildiği gözlenmiştir. Aynı zamanda molekül ağırlığı kontrolünün sağlanabilmesinin yanısıra dağılımının da dar tutulabilmesi bu yöntemin çokça tercih edilmesine sebep olmuştur [19]. YRP ile yüksek saflıkta blok kopolimerler sentezlenebilirken daha karmaşık mimariye sahip polimerlerin üretimi de mümkündür. En popüler ve sıkça kullanılan YRP yöntemleri olarak atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) [20,21] ve tersinir katılma-ayrılma zincir transferi polimerizasyonu (RAFT) [22,23] sayılabilir.

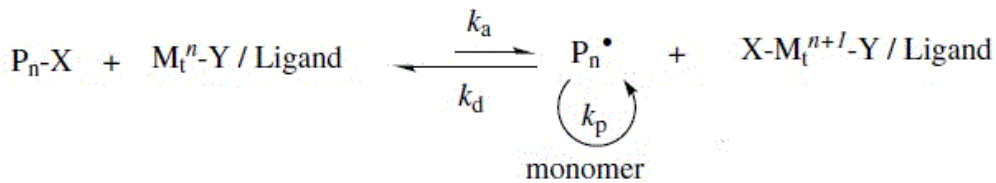
1.3.1 Atom transfer radikal polimerizasyonu

Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP), yaşayan radikal polimerizasyonunun öngörülebilir ve dar dağılımlı molekül ağırlığı gibi geleneksel avantajlarının yanı sıra çözücü bulunan ve bulunmayan ortamlarda gerçekleştirilebilmesi açısından hem akademik hem de endüstriyel alanlarda oldukça ilgi çekmiştir. Atom transferi radikal polimerizasyonu alkil halojenür içeren metal katalizli bir radikal polimerizasyondur. Bu yöntem halojen içeren bir başlatıcı varlığında, metal kompleksi ve büyüme merkezi olarak görev yapacak olan karbon radikalinin oluşması üzerinden yürür [24]. ATRP yönteminde kullanılan başlatıcı ve metal kompleksi örnekleri Şekil 1.6'da gösterilmektedir.



Şekil 1.6: ATRP'de kullanılan örnek başlatıcı ve metal kompleksleri [25].

Polimerizasyonun başlamasını ve aktif merkezlerin büyümesini sağlayan radikaller, bir geçiş metali kompleksi tarafından katalize edilen tersinir bir redoks reaksiyonu aracılığıyla üretilir. Sistemde katalizör olarak görev alan geçiş metali kompleksi, başlatıcıya ait bir halojen atomunun ayrılmasıyla tek elektron oksidasyonuna uğrar. Bu yolla oluşturulan radikaller oksidasyona uğramış metal kompleksi ile tersinir olarak reaksiyona girebilir. Böylelikle aynı işlemi tekrarlayabilecek durumda bir katalizör ve yeniden aktifleşmeye hazır bir tepken oluşur. Bu olay sırasıyla aktivasyon k_a ve deaktivasyon k_d hız sabitleri ile gerçekleşir. Polimer zincirleri, geleneksel radikal polimerizasyona benzer bir şekilde, serbest radikallerin monomerlere k_p hız sabitiyle eklenmesiyle büyümektedir. ATRP'de sonlanma reaksiyonu (k_t) yalnızca radikal birleşmesi yoluyla oluşur fakat iyi kontrol edilen bir polimerizasyon sisteminde, sonlanan zincirlerin yüzde 1'i geçmez. Bu sebeple ATRP yaşayan polimerizasyon olarak adlandırılır [26].



Şekil 1.7: ATRP şematik olarak gösterimi [26].

ATRP’de karşılaşılan en büyük problem uygun fonksiyonel gruplara sahip monomerlerin kısıtlı olmasıdır. Moleküler baskı için kullanılan tipik monomerler (ör., Metakrilik asit ve triflorometil akrilik asit) ATRP’de yer alan metal-ligand kompleksiyle uyumlu değildir. Üstelik, metakrilamid ve vinilpiridin gibi bazı monomerler ile, yüksek monomer dönüşümü elde etmek zordur. Şablon molekülleri, çoğu zaman, katalizörü engelleyebilecek fonksiyonel gruplar da taşırlar. Buna ek olarak, katalizörlerin polimerizasyon sonunda uzaklaştırılması bir gerekliliktir ve bu da yöntemi zorlaştırmaktadır. Dolayısıyla ATRP, moleküler baskılama için en iyi seçim olmayabilir [24].

1.3.2 Tersinir katılma-ayırma zincir transferi polimerizasyonu

Yüzeyde başlatılan yaşayan radikal polimerizasyon (YRP) tercihi, nano parçacık yüzeyleri üzerinde çok çeşitli polimer zincirleri üretmek için önemli bir yaklaşım olarak görülmüştür. YRP’da, büyüyen radikalın ömrü kontrol edilebilir, böylelikle önceden belirlenmiş mol kütlesi, düşük polidispersite, kontrollü kompozisyon ve işlevsellik özelliklerine sahip polimer zincirleri sentezlenebilir. Yüzeyde başlatılan YRP genellikle kararlı serbest radikal polimerizasyonu nitroksit aracılı süreçler, metal katalizli atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) ve dejeneratif transfer (tersinir katılma-ayırma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)) yöntemleriyle gerçekleştirilir. RAFT tekniği, neredeyse tüm geleneksel radikal polimerizasyon monomerleri ile uyumludur. Son yıllarda bu yöntem ile elde edilen MBP’lerin sayısı gittikçe artmaktadır [27].

Geleneksel olarak yığın polimerizasyonunda karşılaşılan sorunlar sebebiyle (molekül ağırlığı dağılımı gibi) polimer biliminde yeni sentez yöntemleri aranmaya başlamıştır. Yaşayan radikal polimerizasyon (YRP) yöntemleri böylece gelişmiştir. Öncelikle Azot-oksit Vasıtalı Polimerizasyon (NMP) tekniğini geliştiren CSIRO (Commenwealth Scientific and Industrial Research Organisation) araştırmacıları yaklaşık 15 yıl kadar sonra da Tersinir Katılma-Ayırma Zincir Transfer Polimerizasyonu’nu (RAFT) keşfetmişlerdir [26]. YRP tekniklerden bir diğer yaygın olanı da Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP)’dur. Bu üç teknik birbiriyle kıyaslandığında monomer yelpazesinin genişliği, yüksek moleküler ağırlık kontrolü

ve ılıman reaksiyon koşullarında sebebiyle RAFT polimerizasyonu en çok tercih edilendir.

RAFT polimerizasyonunun basamakları şu şekilde sıralanabilir (Şekil 1.8):

I) Başlama: Bir etki (ısı, ışık vb.) yardımıyla aktifleşen başlatıcı molekülünün monomer ile birleşerek büyüme hazır radikal meydana getirdiği basamaktır.

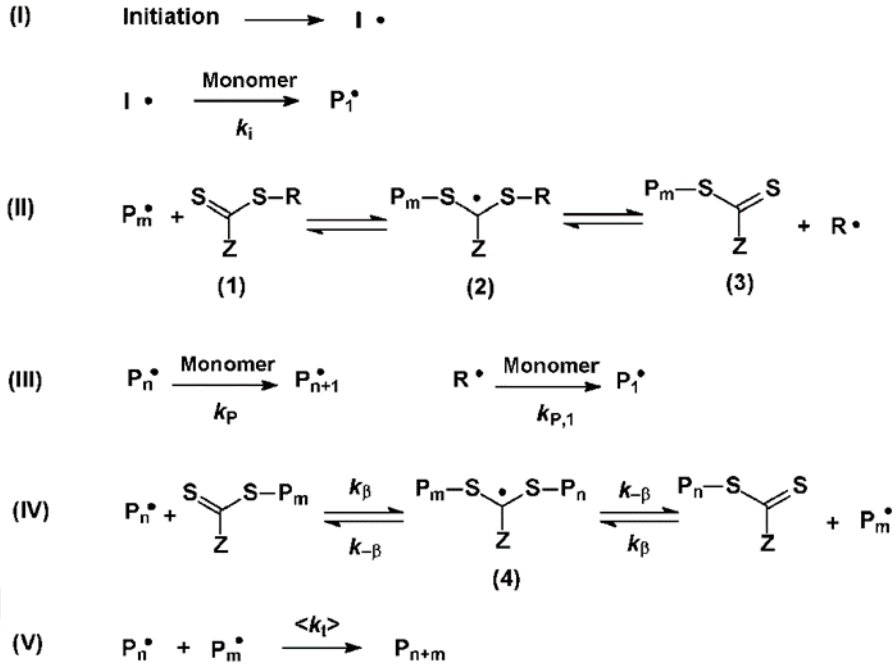
II) Tersinir zincir transferi: Başlatıcı ile birleşerek aktifleşen monomer radikalik özelliğini kaybetmeden büyüme devam eder. Bu sırada RAFT ajanına bağlanarak ara radikali oluşturduktan sonra, yapıyı kararlı hale dönüştürürken yeni bir radikalın ortama geçmesini sağlar.

III) Yeniden başlama: Uzayan polimer zincirinin RAFT ajanına bağlanmasıyla ortama geçen aktif radikalın monomerler ile birleşerek büyüdüğü basamaktır.

IV) Zincir dengesi: Tersinir zincir transferi ve yeniden başlama basamaklarının birbiriyle denge içerisinde devam ettiği safhadır. Ortamda bulunan RAFT ajanının önemi bu noktada ortaya çıkar. Molekül ağırlığının kontrolsüz büyümesinin önüne geçebilmeyi sağlar.

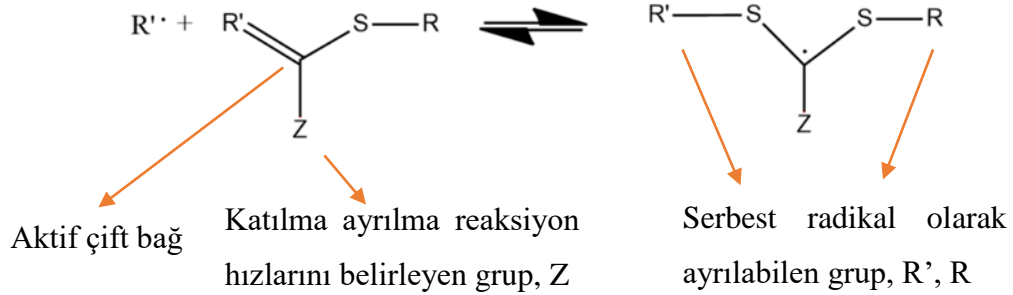
V) Sonlanma: RAFT polimerizasyonunda sonlanma basamağı yoktur. Dış etkenler ile sonlandırılabilir.

Literatür incelendiğinde genel olarak karşılaşılan RAFT ajanı tiyokarboniltiyo bileşiklerinden oluşmaktadır. RAFT ajanının etkinliği yapısında bulundurduğu ayrılan serbest radikal grubu (R), tiyokarbonil çift bağını hem aktifleştiren hem de deaktifleştiren grup (Z) ve polimerize edilen monomerin kimyasına oldukça bağlıdır [28]. RAFT ajanının yapısında bulunan bu R ve Z grupları RAFT sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 1.9).



Şekil 1.8: RAFT polimerizasyonu basamaklarının şematik gösterimi [29]

R grubunun iyi bir serbest radikal oluşumu sağlama ve polimerizasyonu kolay bir şekilde tekrar başlatabilme olmak üzere iki temel görevi vardır. R grubu gibi, Z grubunun da iki ana görevi vardır: Bunlar, radikal ilavesi için C = S bağına aktive etmek ve (en önemlisi) ara radikal birleşimi stabilize etmektir [30].



Şekil 1.9: RAFT ajanı yapısı ve özellikleri

RAFT polimerizasyonunun en önemli avantajı moleküler baskılamada yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler ve şablonlarla uyumlu olmasıdır. Özellikle, ditiyokarbonil reaktifleri ve RAFT'ın makroradikalleri polar ve iyonik gruplara karşı inerttir; bu nedenle RAFT polimerizasyonu, polar türleri içeren polimerizasyon, özellikle şablon-monomer etkileşiminin hidrojen bağına veya iyonik etkileşimlere dayanan bir baskı sistemi için oldukça uygundur. Ayrıca polimerizasyon fotokimyasal olarak da başlatılabilir olduğundan, ısıl başlatmadan daha hızlıdır ve oda

sıcaklığında gerçekleştirilebilir; bu da düşük sıcaklıkta kararlı olan şablon-monomer çiftlerinin kullanıldığı MBP sistemlerinde oldukça kolaylık sağlar [24].

1.3.2.1 RAFT polimerizasyonunun yüzeylerde uygulanması

Malzeme yüzeylerine farklı özellikler kazandırılabilmesi için aşılama yöntemi uygulamaları artmıştır. Yüzeyde başlatılan RAFT polimerizasyonu, aşılınmış polimer zincirlerinin hem yapısını hem de yoğunluğunu hassas bir şekilde kontrol edebilme imkânı sunduğundan oldukça tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemle, malzeme yüzeyine amaçlanan özellikleri kazandırabilen homojen, yoğun ve kalın polimer tabakaları üretilebilir.

Yüzeye aşılınmış polimer zincirleri hazırlamak için takip edilen iki genel yol vardır:

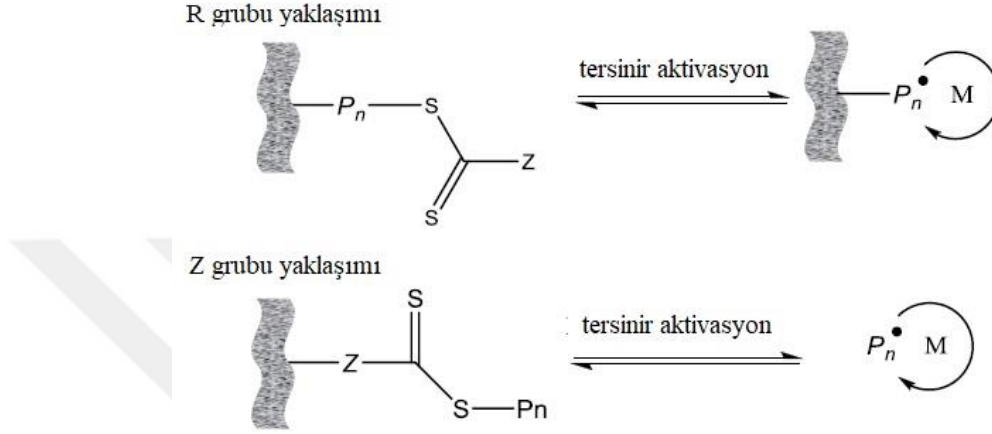
- I. Modifiye edilecek yüzeye başlatıcı sabitlenmesi
- II. Modifiye edilecek yüzeye RAFT ajanı sabitlenmesi
- I. Modifiye edilecek yüzeye başlatıcı sabitlenmesi:

Başlatıcıların malzeme yüzeylerine sabitlenmesi plazma boşaltımı [31], kimyasal reaksiyon [32] ve yüksek enerji ışınlanması [33] gibi çeşitli tekniklerle gerçekleştirilebilir. Başlatıcının yüzeye sabitlenmesinin ardından içerisinde serbest RAFT ajanı bulunan polimerizasyon çözeltisi hazırlanır ve reaksiyon yüzeye sabitlenmiş başlatıcının türüne uygun olan yöntem (ısı, ışık gibi) ile başlatılır. Bu yöntemle gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda, düzgün yapıya ve ayarlanabilir uzunluğa sahip yüzeye aşılınmış polimer zincirleri oluşturabilir. Bu sistemlerde en yaygın olarak kullanılan başlatıcı türü azo-bileşikleridir [28].

Baum ve Brittain yaptıkları çalışmada silika yüzeyine sabitlenmiş azo başlatıcı ve çözeltide serbest RAFT ajanı kullanarak stiren, metilmetakrilat, N-N dimetilakriamid kopolimeri aşılmasını gerçekleştirmişleridir [34]. Azo-başlatıcıyı silika yüzeyinde sabitleyebilmek için ek olarak silan tabakası kullanan grup, RAFT ajanı olarak da 2-fenilprop-2-il ditibenzoat sentezini gerçekleştirmiştir. Çalışmada polimer kalınlığının, RAFT polimerizasyonunun yüzeyde uygulanması sayesinde, sıralı monomer eklenmesiyle daha kontrollü ilerlediği vurgulanmıştır.

II. Modifiye edilecek yüzeye RAFT ajanı sabitlenmesi:

Yüzeyde başlatılan RAFT polimerizasyonu yoluyla malzemelerin yüzeyini modifiye edebilmek için kullanılan bir diğer yol ise yüzeye RAFT ajanını sabitlemektir. R grubu veya Z grubu yaklaşımı olarak adlandırılan iki farklı yöntem izlenerek gerçekleştirilebilir (Şekil 1.10).



Şekil 1.10: Yüzeye Raft ajanı sabitlenmesinin iki farklı yöntemi olan R ve Z grubu yaklaşımlarının şematik olarak gösterimi [35]

R grubu yaklaşımında RAFT ajanı, ayrılan serbest radikal grubu (R) aracılığıyla yüzeye sabitlenir. Yüzey, ayrılan R grubunun bir parçasıymış gibi davranır ve büyüyen radikaller aşılana polimerin uç bölümünde yer aldığından, polimer zincirinin büyümesini de kolaylaştırmaktadırlar.

Z grubu yaklaşımında ise RAFT ajanı, dengeleyici özellik taşıyan Z grubu vasıtasıyla yüzeye sabitlenir. Polimerik radikaller, bağlı RAFT ajanları sayesinde yüzeye tutturulmadan önce çözelti içerisinde büyümeye devam ederler[28].

1.4 Nanoyapılarda Yüzeye Moleküler Baskılama

Mekanik ve kimyasal dayanıklılık, düşük maliyet ve hazırlanma kolaylığı gibi avantajlar sebebiyle oldukça fazla araştırılan moleküler baskılanmış polimerlerin üretiminde şablonun yeterince uzaklaştırılamaması, bağlanma kapasitesi düşüklüğü, yavaş kütle transferi gibi sınırlandırmalarla karşılaşılabilir. Bu problemlere sebep olan esas nedenlerden biri, MBP'lerin yüksek çapraz bağlanma özelliğinden dolayı, yığın malzemelerin iç alanlarında bulunan orijinal şablonların uzaklaştırılmasının oldukça

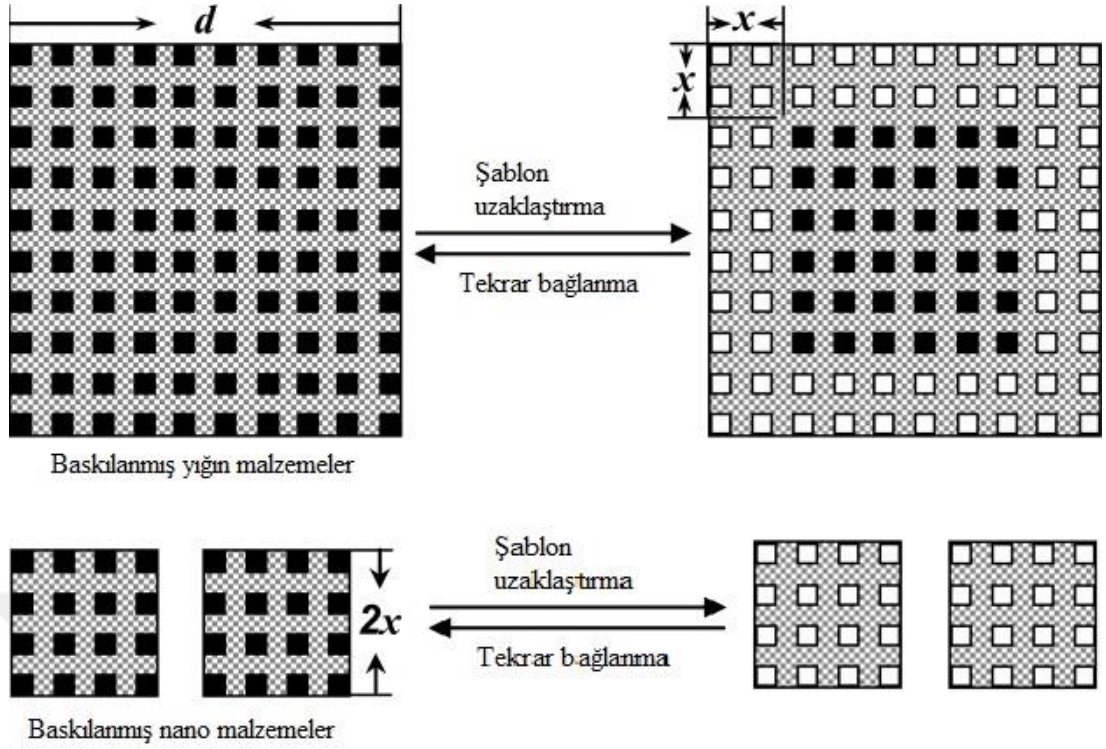
zor olmasıdır [36]. Ayrıca, geleneksel baskılama tekniklerinde olduğu gibi üretilen boşluklar yüzeyde değilse hedef molekülün aktif bölgeye erişebilmesi ve yeniden bağlanma kapasitesi düşer. Bu durumda yüksek seçicilik sergileyen ancak düşük bağlanma kapasiteli polimerler üretilmektedir. Bu problemlerin çözümü için, şablonların yüzeyde veya yüzeyin yakınında yer alması öngörülmüştür [37].

Son zamanlarda film yüzeye baskılama [38], yüzeye aşılama yolu ile baskılama [39] ve çekirdek-kabuk nanoparçacık yüzeyine baskılama [40] gibi şablon kontrollü baskıların gerçekleştirildiği çalışmalar artmaktadır [41,42]. Baskılanan bölgelerin yüzeyde oluşmasını kontrol etmek için, şablon moleküllerinin katı alttaşların yüzeyinde kovalent olarak sabitlenmesi sağlanır. Polimerizasyonun ardından substratın çıkarılmasından sonra seçici bölgelerin yüzeyde yerleşik bulunması ve hedef moleküllerin yüksek erişilebilirlik kazanması sağlanır. Fakat şablon moleküllerinin MBP yüzeyine kovalent olarak bağlanması halen karmaşık ve tekrar edilemez olabilmektedir. Çünkü yüzey alanı sınırlıdır ve tanıma alanlarının toplam miktarı yığın baskılanmış MBP'lere göre daha azdır. Bu sebeple oluşturulan ürünlerin yeniden bağlanma kapasiteleri de daha düşüktür [37].

Baskılı nano-malzemeler küçük boyuta fakat yüksek yüzey/hacim oranına sahiptir, böylece şablon moleküllerin çoğu malzeme yüzeyinde ve yüzeyin yakınında bulunmaktadır. Şekil 1.11, şablon uzaklaştırılmasının ardından, baskılanmış yığın malzemeler ve nano malzemelerin sahip olduğu aktif bağlanma noktalarını göstermektedir. Yüzeyden x-nanometre içerideki bu şablonların, d ölçeğindeki yığın malzemesinden çıkarıldığı ve sonrasında hedef moleküllerin bu baskılanmış bölgelere erişebileceği varsayılarak, hedef moleküllerinin tekrar bağlanabileceği aktif bölgelerin hacmi ise şu bağıntıyla hesaplanır:

$$V_{\text{aktif}} = d^3 - (d - 2x)^3 \quad 1.1$$

MBP sentezi sırasında poröjen çözücüler kullanılmasına rağmen, x değeri yığınsal malzemeler için genellikle çok küçüktür. Aynı boyuta sahip MBP'ler 2x nm ölçekli nanoyapılar halinde hazırlandığında, şablonlar çapraz bağlanmış matristen yüksek oranda çıkarılabilir ve bu bölgelerin hepsi hedef moleküller için etkindir. Bu nedenle, nano boyutta baskılanmış malzemelerin bağlanma kapasitesinin, bağlanma kinetiğinin ve hedef moleküllerin aktif hacme erişilebilirliğinin gelişmesi beklenir [37].



Şekil 1.11: Baskılanmış yığın ve nanomalzemeler ile şablon molekül uzaklaştırılması ve tekrar bağlanması şematik gösterimi [34]

1.4.1 Nanoçubuklarda moleküler baskılama

Moleküler baskılanmış yapıların polimer malzemeler ile üretimi oldukça basit bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Nanoyapılarda yüzeye baskılamanın yaygınlaşmasının ardından farklı geometrilerde üretim dikkat çeken bir alan olmuştur. Genellikle sensör uygulamaları için tasarlanan sistemlerin merkezi nano boyutta ve çubuk şeklinde hazırlanan inorganik bir yapıdan oluşturulurken, yüzeyde moleküler baskılama işlemi polimer ya da kopolimer kaplanarak gerçekleştirilmektedir.

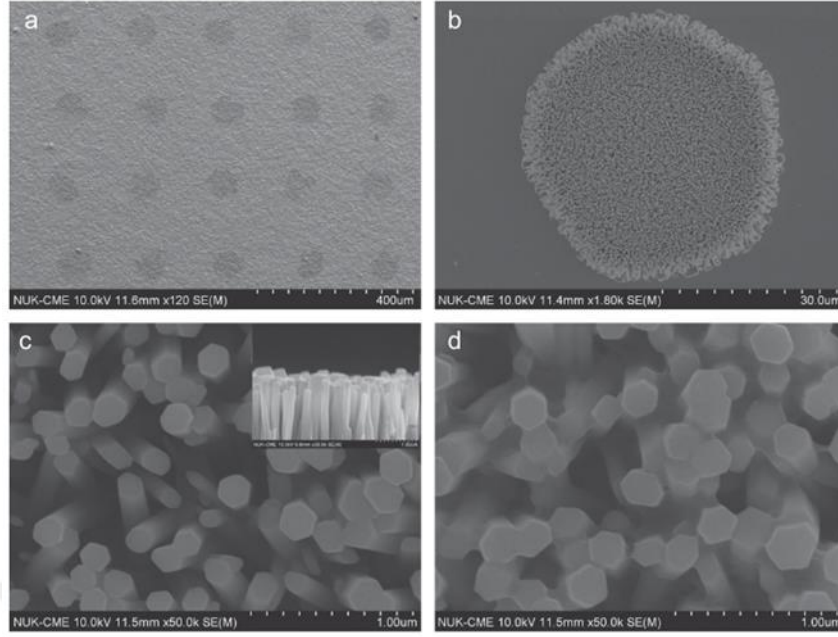
Yang ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınlanan çalışmaları silindirik geometride gerçekleştirilen baskılama işleminin ilk örneklerindedir [43]. Bu çalışmada 100 nm çaplı gözenek duvarları silan molekülleriyle kaplanmış anodik alümina membran kullanılmıştır. Aldehit grubu içeren silan tabakası şablon molekülü olan glutamik asitin amino grupları ile reaksiyona girmiş ve membran duvarına tutunmalarını sağlamıştır. Polipirol polimeri 12 saatlik bir polimerizasyonun ardından elde edilmiştir. Serbest nanotelleri elde edebilmek amacıyla membran ilk olarak seyreltik fosforik asit, ardından NaOH ve son olarak 1,5 V altında oksidasyona maruz

bırakılarak uzaklaştırılmıştır. Gerçekleştirilen oksidasyon basamağının polimer yüzeyindeki molekül izinin glutamik asit ile örtüşmesini arttırdığı öne sürülmüştür.

Polimer nanoçubuklar glutamik asit içeren su çözücüsü içerisinde 1 saat bekletildikten sonra santrifüj yöntemiyle ayrılmış ve çözeltide kalan şablon molekül miktarı tayin edilmiştir. Baskılanmış polimerin baskılanmamış kontrol gruba oranla yaklaşık 7 kat daha fazla glutamik asit tuttuğu tespit edilmiştir. Tutunmanın 20 dakikada doyuma ulaştığı vurgulanmış ve bağlanma noktalarında hızlı etkileşim olduğu belirtilmiştir. Ayrıca glisin molekülü baskılaması da gerçekleştirilmiş fakat kontrol grubuna oldukça yakın sonuçlar etmişlerdir. Bu durumda glutamik asit baskılanmış nanotellerin performansının şablon molekülünün kimyasal yapısından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Ahmad ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, folik asitin kompleks sistemlerde bile Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) kullanılarak tespit edilebilmesi amaçlanmıştır [44]. Bunun için merkezi nano boyutta altın (Au) çubuklar sentezlenmiş ve şablon molekülü olan folik asit varlığında metakrilik asit ile N, N'-metilenbisakrilamid monomerleri kopolimerize edilmiştir. 5-20 nm arasında değişen kalınlıkta elde edilen polimer tabakasının plazmon pikinde genişlemeye sebep olmadığı UV-Görünür Bölge Spektroskopisi ile teyit edilmiştir. Baskılanmış nanoçubukların baskılanmamış örneklere göre 5 kat daha fazla folik asit tutması ve asetik asit ile muamele edildiğinde SERS sonucunda gözlenen ve şablon molekülü kaynaklı olduğu düşünülen 1595 cm^{-1} and 1365 cm^{-1} bantlarının kaybolması baskılama işleminin başarıyla gerçekleştirildiğini kanıtlamıştır. Tespit edilebilen en düşük derişimin $0,1\text{ }\mu\text{M}$ olduğu belirtilmiştir.

Oldukça tercih edilen bir diğer inorganik madde ise çinko oksittir. Literatürde genel olarak yer verilen serbest nanoçubukların moleküler baskılanmış polimerler ile kaplanmasından farklı olarak Lee ve arkadaşlarının çalışmasında altın tabakası üzerinde hazırlanan düzenli dizilmiş çinko oksit nanoçubuklar üretilmiştir (Şekil 1.12) [45]. Ardından nanoçubukların yüzeyi melatonin varlığında poli(etilen-ko-vinilalkol) kopolimeri ile kaplanmış ve idrarda bulunduğu takdirde hem göğüs hem de prostat kanseri habercisi olabilen melanin polimer tabakasından uzaklaştırılmıştır.



Şekil 1.12: Nanoçubuk kökleri (a), büyütülmüş nanoçubukların iki farklı oranda büyütülmüş (b,c) ve melanin baskılanmış polimer kaplanmış TEM görüntüleri [45]

Melaninin nanoçubuklara tutunması Floresans Spektroskopisine ek olarak yüzeyin kimyasal analizi ile doğrulanmıştır. Tekrar bağlanabilirliğin 15 tekrara kadar sağlanabildiği çalışmada melanin tutunmasının albümin, keratin ve üreye göre çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Grimm ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir başka çalışmada ise Anodik Alüminyum Oksit (AAO) membran yardımıyla üretilen polimetilmetakrilat (PMMA) polimeri düzenli nanoçubuklar olarak üretilmiş ve ardından bu yapı baskılama için kullanılmıştır [46]. Küçük gözenekli kalıplar biyolojik ortamlardan çeşitli kimyasal maddelerin ayrılabilmesi için oldukça önemlidir ve gözeneklerin homojen olarak üretilmesi zordur. Bu çalışmada üretilen PMMA düzenli nanoçubukları üzerinde kalsine edilmiş silika baskılamak için kullanılmış ve mezo boyutta homojen dağılımlı silika membran üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Yüzey alanı BET gözenek analiz cihazı ile $730 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak tespit edilmiştir. Sistemde herhangi bir tutunma işlemi gerçekleştirilmeyen grup nanoçubuk yapısında düzenli ve homojen mezo gözenek elde edebildiklerini belirtmişlerdir.

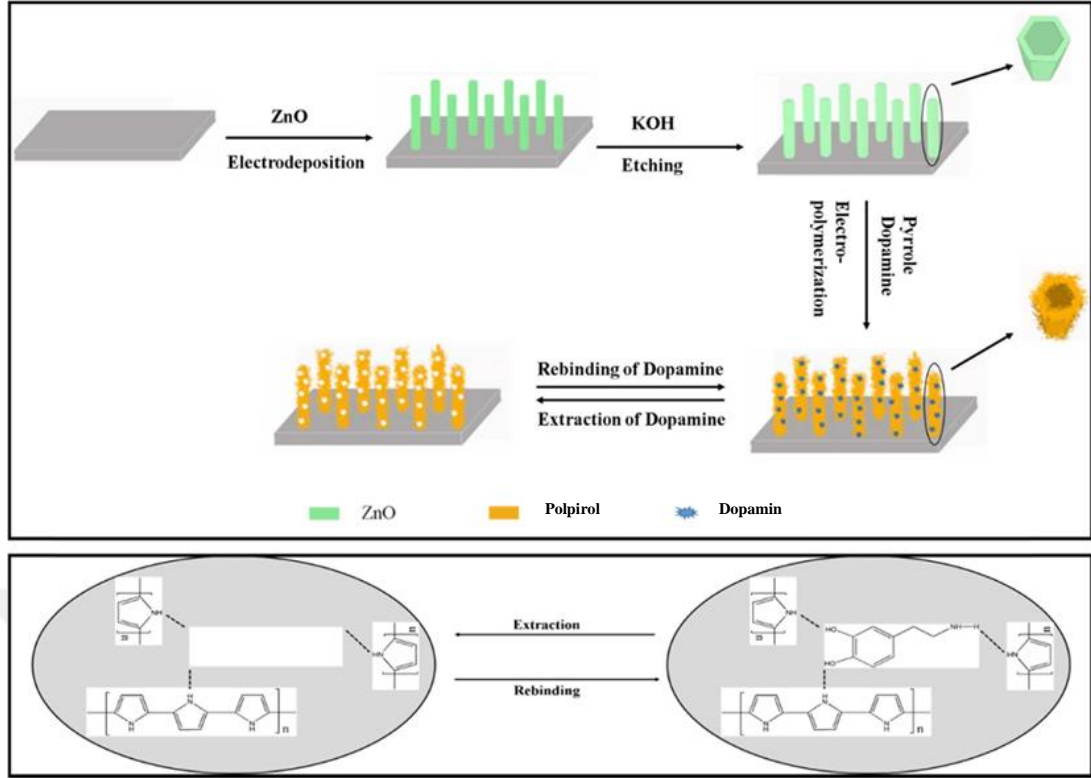
Wang ve arkadaşları bu çalışmada memeli sinir ve hormon sisteminde önemli bir rol oynayan dopamin nörotransmitterini baskıladıkları polimer tabakasını düzenli dizilmiş çinko (II) oksit nanotüplerine kaplamışlardır [47]. Elektrokimyasal analiz sırasında

tayini oksidasyon pikinin askorbik ve ürik asit ile çakışma göstermesi sebebiyle sorunlu olan dopaminin gerçek örneklerde tespiti düşük derişim sebebiyle (26-40 nM) oldukça zordur. Bu sebeple son yıllarda oldukça sık kullanılan moleküler baskılama yöntemi ile elektrokimyasal analizi birleştiren grubun, baskılanmış polimer zemini olarak ZnO nanotüp dizilimini tercih etmesinin sebebi ise yüzeyinde baskılanmış bir tabaka bulunmadığında dahi ZnO nanoçubuklarının baskılanmış polimer filmlerinden daha yüksek performans göstermesi olarak belirtilmiştir.

Çinko (II) oksit nanotüplerin (ZNT) üretiminin ilk basamağı olarak çinko (II) oksit nanoçubuk (ZNR) dizilimleri çöktürme yöntemi ile sentezlenmiştir [47]. Üretim yüzeyi olarak flor doplanmış kalay oksit seçilmiş ve sabit potansiyelde biriktirme yöntemi uygulanmıştır. Nanoçubuk dizilimleri düşük sıcaklıkta ve bazik çözelti içerisinde kimyasal aşındırmaya maruz bırakılarak nanotüplere dönüştürülmüştür. Ardından polipirol, elde edilen nanotüplerin iç ve dış yüzeylerine elektropolimerizasyon yöntemi ile kaplanmıştır. Polimerizasyon işlemi sırasında ortamda bulunan şablon molekülü (dopamin) fosfat tampon çözeltisine daldırılarak sistemden uzaklaştırılmış ve baskılanmış yüzeyler kullanıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 1.13).

İletken olan pek çok malzeme üzerine kaplanabilen ZNR, ZNT yapısına kolayca çevrilebilmekte, yüzey alanında artış sağlamak ve bu durum baskılanmış polimer içeren alanı da arttırdığından elektrokimyasal tayin için uygun geometri sağlamaktadır. Hazırlanan örneklerin TEM görüntüleri incelenmiş ve ilk aşama olan ZNR boyutlarının 250-300 nm arasında olduğu gösterilmiştir. Kimyasal aşındırma sonrasında elde edilen nanotüplerin iç çapı 180 nm olarak kaydedilmiştir. Polimer kaplı nanotüplerin de TEM görüntüsü incelenmiş ve nanotüplerin 300-400 nm dış, 58-80 nm iç çapa ulaştıkları görülmüştür. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda ZNR yapısına kıyasla ZNT geometrisiyle etkin yüzey alanının iki katına çıkarıldığı vurgulanmıştır.

Baskılanmış polipirol kaplı ZNT elektrokimyasal algılayıcı olarak performansını daha belirgin bir şekilde gözlemleyebilmek için Aralıklı Atım Voltametri- AAV (differential pulse voltammetry- DPV) yöntemi -0,4 ve 1,2 V arasında, 1 mM K₃[Fe

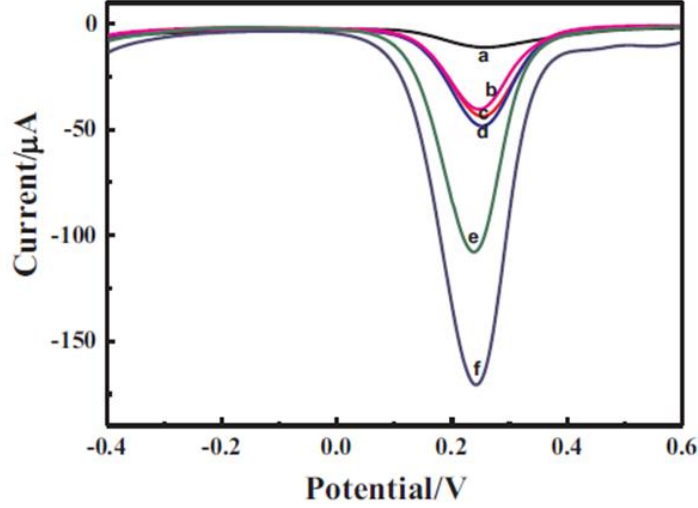


Şekil 1.13: Elektrokimyasal analiz için ZNT desteklenmiş baskılanmış polimer üretim şeması [47]

(CN)₆] elektrolit çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Sensör sistemine ek olarak baskılanmış ve baskılanmamış polimer kaplı ZNR yanı sıra düzlemsel bir film şeklinde kaplanmış yüzey üretimi de gerçekleştirilerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. Baskılanmış bütün yüzeylerin baskılanmamış yüzeylere oranla daha yüksek yanıt verdiği açık bir şekilde görülmüştür (Şekil 1.14). Şablon molekülünün baskılama sonrasında yüzeyden uzaklaştırılmasının sonucu olarak kavitelerin K₃[Fe (CN)₆] geçişine olanak sağlanması EES yönteminde olduğu gibi bu analizde de doğrulanmıştır. Fakat baskılanmamış olmasına rağmen ZNR ve ZNT yapılarının baskılanmış düzlemsel yüzeye oldukça yakın yanıt vermiş olması dikkat çekmektedir. Bu durum nanuçubuk ve nanotüp yapılarının yüzey alanının film yüzeyine oranla fazlaca artmış olması ve yük transferine daha fazla olanak sağlayabilmesi ile açıklanmıştır. ZNR ve ZNT yapıları arasında da 1.5 kata kadar belirgin bir fark gözlenmiş, nanotüplerin iç yüzeylerinin de aktif yüzey alanına dahil olmasının bu artışa sebep olduğu vurgulanmıştır.

AAV yöntemi ile şablon molekülünün polimer tabakasından uzaklaştırılması takip edilmiş ve tarama döngüsünün artmasıyla aktif kavite sayısının arttığı gözlenmiştir. Uygulama potansiyeline karar verebilmek için 1 nM- 800 µM derişim aralığında

örnekler hazırlanarak AAV ölçümleri alınmıştır. Derişim arttıkça kavitelelerin daha fazla dopamin tarafından doldurulması ve yük aktarımına izin vermemesi sebebiyle uç akım değerinde düşüş gözlenmiştir.



Şekil 1.14: Üretilen polimer-çinko (II) oksit hibrit yüzeylerin Aralıksal Atım Voltametri yöntemi ile elde edilen eğriler. Bakılanmamış polimer kaplı a) düzlemsel film b) ZNR c) ZNT, baskılanmış polimer kaplı d) düzlemsel film e) ZNR f) ZNT [47]

Seçicilik testlerini gerçekleştirmek için dopamine yapısal ya da ara yüzeydeki davranış olarak benzer 5 molekül test edilmiştir. Ürik ve askorbik asit, epinefrin, norepinefrin ve levodopa molekülleri bu amaçla seçilmiş ve analiz sırasında dopaminin 5 katı kadar derişimde kullanılmışlardır. AAV ölçümünde uç akım değerinin ölçümü ile yapılan karakterizasyonda baskılama faktörü (α) şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\alpha = \frac{[I_0 - I]_{\text{baskılanmış polimer}}}{[I_0 - I]_{\text{baskılanmamış polimer}}} \quad 1.2$$

Burada I_0 $K_3[Fe(CN)_6]$ elektrolitinin içerisinde hedef molekül bulunmadığı durumda gözlenen uç akım noktası, I ise hedef molekül bulunduğu durumda gözlenen uç akım noktasıdır. Baskılanmış polimer yüzeyi kullanılarak alınan sonucun baskılanmamış polimer kullanılarak alınan sonuca ise baskılama faktörünü verir. α dopamin molekülü için 16,34 olarak hesaplanırken benzer moleküller için bu değer 0,87-1,23 arasında değişmektedir. Gerçek insan idrarında dopamin tayinini de test eden grup 0,05, 2,00 ve 50,0 μM dopamin enjekte edilen 100 kat seyreltilmiş idrardan sırasıyla %100, %98,5 ve %98,2 oranında şablon molekülü geri kazanımı sağlanmıştır.

Son olarak hazırlanan yüzeyin tekrar kullanılabilirliği incelenmiş ve aynı yüzey ile 10 kez art arda ölçüm alınmıştır. %8,96 oranında bağıl standart sapma gözlenmiş ve tekrarlanabilirlik oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca 15 gün boyunca açık havada bırakılan sensör yüzeyi süre sonunda %92 oranında benzer yanıtlar vermiştir. Son olarak iki hafta boyunca her gün AAV ölçümü alınmış ve ZNT kararlılığı test edilmiştir. Süreç bitiminde orijinal yanıtın %91 benzerini veren baskılanmış polimer kaplı sistemin kararlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Elektrokimyasal sensör olarak üretilen ZNT destekli baskılanmış polipirol yapıların performansı incelenmiştir. Nanotüp yapısının iç ve dış yüzey baskılama için uygun olması bu yapıyı oldukça çekici bir alternatif haline getirmiştir. Ayrıca etkin yüzey alanının neredeyse iki katına çıkarılıyor olması yüksek hassaslıkta ve güçlü sinyal cevabıyla ölçüm alınmasına olanak vermekle birlikte oldukça dayanıklıdır. Bu sebeplerle çeşitli biyomolekül baskılama prosedürlerine temel oluşturabileceği öne sürülmüştür.

Lv ve arkadaşları insan kanı gibi kompleks gerçek sistemlerde dahi hedef molekül tayini yapabilen altın nanoçubuklar etrafında kaplı moleküler baskılanmış sistemi SERS analizi için hazırlamışlardır [48]. Cam yüzey üzerinde yığın ya da sık istiflenmiş dizilim şeklinde elde edilen altın nanoçubukların, protein biyo-işaretleyici tayininde sinyal güçlendirme etkilerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Altın nanoçubuklarının üzerine hedef molekülün sabitlenmesinin ardından dopamin monomerinin kendinden polimerizasyonu sağlanmıştır. Baskılanmış polimer tabakası kalınlığı ve altın nanoçubuklarının boy-en oranı etkisinin SERS sinyaline etkisi incelenmiştir.

Altın nanoküreler ile karşılaştırıldığında nanoçubuk yapısı hem enine hem de boyuna yüzey plazmon rezonans oluşturdukları için SERS ölçümlerinde daha fazla güçlendirme ile karşılaşılmaktadır. Bu sebeple bu çalışmada altın nanoçubukları farklı boy-en oranında üretilmiş ve etkinlikleri incelenmiştir. İlk olarak üretilen nanoçubukların Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) görüntüleri alınmış en ve boy uzunlukları not edildikten sonra UV spektrumları çekilmiştir.

Bağlama testleri baskılanmış ve baskılanmamış nanoçubukların transferin çözeltisi içerisinde bekletilmesiyle gerçekleştirilmiş ve bağlama kapasiteleri sırasıyla 66,6 mg/g ve 16,7 mg/g olarak hesaplanmıştır. Baskılanmamış nanoyapıların gösterdiği bağlama

kapasitesinin polimerlerin yapısı gereği yüzeyde bulunan pürüzlülüğe seçici olmayan bağlanma gerçekleşmesinden kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Geri bağlama ve seçiciliği de incelenen nanotüpler, kan plazma proteinlerinden şablon molekülü ile en çok girişim gözlenen miyogloblin, lizozom ve insan serumu albümini arasından transferine 4 kata kadar yüksek seçicilik göstermiştir. Bu baskılama yönteminin genel olarak uygulanabilirliğini incelemek isteyen grup aynı prosedürü insan serumu albümini ile de gerçekleştirmiş ve benzer oranda başarılı sonuç gözlemleyebilmişlerdir.

Bağlama kapasitesi incelenen ve başarılı sonuç veren transferin baskılanmış polidopamin kaplı altın nanotüplerin SERS ölçümlerindeki performansları incelenmiştir. Nanoçubukların SERS ölçümü öncesinde yapılan inkübasyon basamağında kullanılan transferin çözeltisinin derişim değışimi etkisi de izlenmiştir. $5,6 \cdot 10^{-8}$ M ile $2,1 \cdot 10^{-6}$ M arasında değışen derişimler çalışılmış ve transferin çözelti derişimi ile pik şiddetinin doğru orantılı bir davranış gösterdiği gözlenmiştir. Saptama limiti ise 10^{-8} M olarak belirtilmiştir.

Moleküler baskılanmış polimer tabakasının kalınlığının sensör performansında etkili olduğu belirtilmiştir. Bağlanmanın başarılı olabilmesi için baskılama yapılan polimer film kalınlığının baskılanacak molekül çapından az olması gerektiği vurgulanmıştır. Tabaka inceldikçe baskılanmış kavitelere kütle transferi kolaylaşmaktadır. Fakat bu incelik fazlaca azaldığında bağlanmaya elverişli kavite sayısı ve taşıma kapasitesi düşmektedir. Film kalınlığının fazlaca artması da benzer bir sonuç doğurmaktadır. Altın nanoçubuk dağılımı geniş alana yayıldığından sinyal güçlendirme etkisi azalma göstermektedir. Bu sebeple optimum film kalınlığı bulunmalıdır. Polimerizasyon çözeltisi içerisindeki dopamin derişimi (0,5-4,0 mg/ml) değıştirilerek farklı kalınlıklarda filmler elde edilmiştir. $5,3 \pm 4$ nm kalınlığında film oluşumunu sağlayan 2,0 mg/ml derişimi en güçlü SERS sinyali alınan derişim olarak gözlenmiştir. Son olarak altın nanoçubuklarının boy-en oranının sinyal gücüne etkisi incelenmiş ve üretilen boy-en oranlarından $2,9 \pm 0,3$ oranının en başarılı sonucu verdiği görülmüştür.

Gerçek biyolojik örneklerde de inceleme yapılmış ve sinyal gücü takip edilmiştir. İnsan kanında $2,0 \cdot 10^{-6}$ M transferin inkübe edilmiş ve baskılanmış polidopamin kaplı altın nanoçubuklar bu ortamda bekletildikten sonra santrifüj yöntemiyle toplanmıştır. Raman spektrumu incelenen nanoçubuklar 453, 729, 835, 960, 1060, 1202, 1395 ve

1536 cm⁻¹ dalgasayısında transferin kaynaklı piklerini güçlendirirken, spektrumda aynı zamanda çok düşük şiddette de olsa 567, 673 ve 1270 cm⁻¹ dalgasayılarında insan serumu albümininin seçici olmayan bağlanması sonucu oluşan piklere rastlanmıştır.

Çalışmada hem sulu çözeltilerden hem de insan kanı örneğinden transferin proteinini yüksek seçicilikte ayırıp SERS analizinde sinyal güçlenmesini sağlayan moleküler baskılanmış plazmonik sensör üretimi sağlanmıştır. 10⁻⁸ M derişime kadar tespitte olanak veren bu sistemin ileride çalışılacak protein biyoişaretleyici sistemleri için de ümit verici olduğu belirtilmiştir.

İlaç atıklarının gün geçtikçe daha çok doğaya karışması sebebiyle bu probleme çözüm arayışı oldukça ilgi çekici bir çalışma konusu haline gelmiştir [49]. Bu amaçla yine doğadan esinlenerek bir sistem hazırlanmış ve manyetik özellik taşıyan çekirdek-kabuk yapısında nanotüpler üretilmiştir. Yüksek bağlama kapasitesi gösteren *Setaria viridis* ilham kaynaklı nanoyapılar oldukça ince hidrofilik film yüzeyde başlatılan atom transfer radikal polimerizasyonu yöntemiyle kaplanmıştır. Sülfametazin antibiyotik ilacını 45 dakika kadar kısa bir sürede bağlayan nanoçubuklar manyetik olarak ortamdan uzaklaştırılabilmekte ve atık sulardan ilaç kalıntılarını arındırabilmektedir. Halosit nanotüpleri (HNT) (Al₂Si₂O₅.nH₂O) iç (10-30 nm çap) ve dış (50-100 nm çap) yüzeylerinde 1:1 oranında tetrahedral ve oktahedral katmanlar içermektedir.

Sonraki basamak olarak üretilen nanoçubukların manyetik özellikleri incelenmiş ve histerisis göstermediklerine ek olarak koersivite değeri de sıfıra oldukça yakın elde edilmiştir. Süperparamanyetik özellik gösteren nanoçubukların manyetik doyuma ulaştıkları nokta ise 2,81 ± 0,071 emu g⁻¹ olarak elde edilmiştir. Polimer kaplanmasının ardından 2,51 ± 0,056 emu g⁻¹, hidrofilik kaplamanın ardından ise 2,29 ± 0,042 emu g⁻¹ olarak gözlenmiştir. Manyetik doyum noktasında meydana gelen bu düşme manyetik olamayan bir tabaka ile kaplama yapıldığından beklenen bir düşüş olmakla birlikte manyetik ayırmaya engel olacak büyüklükte olmadığı yazar tarafından vurgulanmıştır.

Seçici bağlanma testleri tetrasiklin (TC) ve siprofloksasin (CP) antibiyotikleri varlığında incelenmiştir. 100 µM derişiminde antibiyotik içeren çözeltilerin içerisine bırakılan nanotüpler oda sıcaklığında 12 saat boyunca bekletilmiştir. Bağlama miktarı

Ben Aissa ile Lv ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmalar ile aynı denklem kullanılarak hesaplanmış ve en çok bağlayıcılık sülfametazin ortamında gerçekleşmiştir. Baskılanmamış durumda seçici olmayan bağlanma az miktarda gözlenmiş, TC ve CP bağlanmaları ile yakınlık göstermiştir. Nanotüplerin tekrar kullanılabilirliğini test etmek adına her bağlanma testinden sonra metanol: asetik asit (9:1 v/v) karışımında Soxhlet ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve nanotüpler tekrar kullanılmıştır. 7 tur kullanımın ardından yalnızca %7,62 azalma gösteren nanotüpler tekrar kullanılabilirliğe oldukça uygun oldukları vurgulanmıştır.

Sonuç olarak iki basamaklı yüzeyde başlatılan atom transfer radikal polimerizasyonu ile haloysit nanotüp yüzeyi başarıyla sülfametazin baskılanmıştır. Manyetik özellik kazandırılan nanotüplerin yüzeyi hidrofilik karaktere dönüştürülmüş ve 12 nm kalınlığında tabakayla kaplanmıştır. Çok ince bir polimer tabakasına sahip bu nanotüplerin bağlama süresi de 45 dakikaya kadar kısaltılabilmektedir. Baskılanmamış polimere oldukça yüksek seçicilik gösteren tüpler baskılanmış kavite varlığını ve performansını etkilemeden çok fonksiyonlu sensör sistemlerinin oluşturabileceğini kanıtlamaktadır.

1.4.2 Nanokürelerde moleküler baskılama

En geleneksel haliyle yığın polimerizasyonu ile elde edilen moleküler baskılanmış polimerler, karşılaşılan zorlukları aşabilmek adına daha sonrasında çöktürme ve emülsiyon polimerizasyonları ile de üretilmişlerdir. MBP nano parçacıklarının morfolojisi sentez koşullarındaki ufak değişikliklere bile oldukça hassastır. Fakat nano boyuta inmiş olmanın getirdiği avantajlar üretimin başarılı sistemler oluşturmasını sağlamaktadır [6,27].

İlk baskılanmış nanoparçacıklar, metalik Cu (II)'yi algılamak üzerine düzenlenmiştir [50]. İyon şablon ve yüzey aktif bir madde arasında oluşturulan kompleks yardımıyla baskılama işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan sistemi potansiyometri ile takip eden Tsukagoshi ve arkadaşları, Cu²⁺ ve Ca²⁺ iyonlarının oluşturdukları sistemdeki performanslarını karşılaştırmış ve Cu²⁺ iyonlarının yüzeye daha fazla tutunduğunu göstermişlerdir.

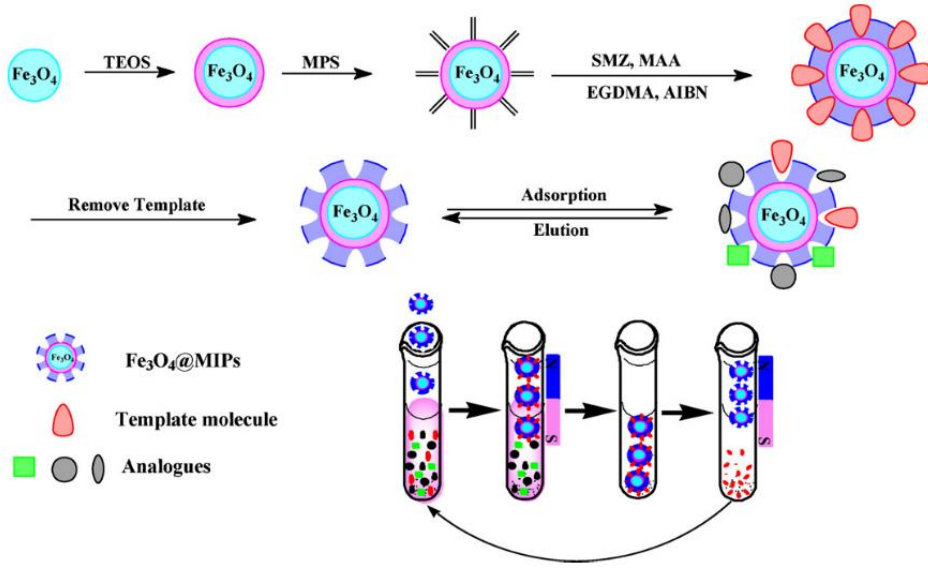
Kanatlı hayvan yeminden sülfonamidlerin uzaklaştırılması için, manyetik özellik taşıyan Fe₃O₄ nanoparçacıklarının üzerinde MBP tabakası Kong ve arkadaşları tarafından hazırlanmıştır [41]. Magnetit nanoparçacıkları önce amonyak ortamında sentezlenmiş ve sonrasında silika ile kaplanmıştır. Ardından, MBP tabakası başlatıcı ve şablon molekülleri varlığında en yaygın olarak kullanılan monomerler MAA ve EDMA ile kopolimerize edilmiştir (Şekil 1.15).

MBP'lerin çekirdek-kabuk türünde bir diğer uygulaması da danşen bitkisinden özütlenen Tanşınon IIA (TSIIA) kimyasalı için gerçekleştirilmiştir. Silika nanoparçacıklarının etrafına kaplanan baskılanmış tabaka, yine MAA ve EDMA kopolimerlerinin şablon molekülü varlığında ısı polimerizasyonu ile üretilmiştir. Kalın bir tabaka elde etmek için uzun süre (30 saat kadar) polimerize edildikten sonra çapraz bağlanma yoğunluğunu arttırabilmek adına 85 °C'de 24 saat ısı işleme maruz bırakılmıştır. Santrifüj yöntemi ile şablonu uzaklaştırılan MBP nanoparçacıkların, gerçek örnekleri analiz etmek için de uygulanabilirliği gösterilmiştir [51].

Çekirdek-kabuk sisteminden farklı olarak, moleküler metilksantin baskılanmış nanoboyutta silika parçacıklar Gomez ve arkadaşları tarafından üretilmiştir [52]. Şablon olarak kafein, işlevsel monomer olarak 3-aminopropiltrimetoksisilan ve ağ oluşturan kimyasal olarak da tetraetil ortosilikat kullanılmıştır. Amonyum hidroksitin katalizör olarak kullanıldığı bu yöntemde baskılama işlemi 24 saatten daha kısa sürede elde edilmiştir. Kurutulup hazırlanan üründen şablon molekülü uzaklaştırılmış ve HPLC-UV yöntemi ile hem saf su hem de insan idrarında analizler yapılarak performansının başarılı olduğu gösterilmiştir.

2016 yılında yayınlanan bir çalışmada, Afzal ve arkadaşlarının eser miktarda organik çözücü buharı tayini için Kuartz Kristal Mikrobals (KKM) sensörü hazırlamalarına yer verilmiştir [53]. Bir polimer ve bir kopolimer tabakasına moleküler baskılama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu tabakaların arasında çekirdek-kabuk altın nanoparçacığı varlığında ve yokluğunda KKM dönüştürücü üzerine kaplanması sağlanmış ve performans analizleri yapılmıştır.

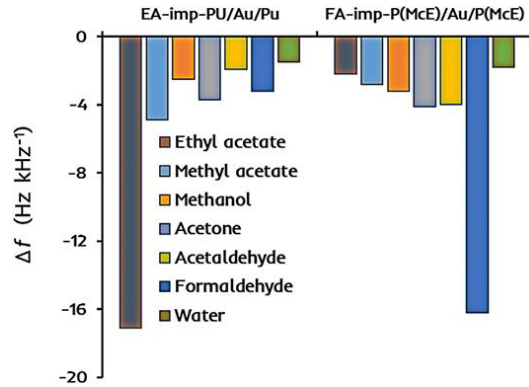
Baskılanmış ve baskılanmamış polimerlerin performansları KKM ile incelenmiştir (Şekil 1.16). Baskılanmamış örneklerde oldukça az miktarda seçici olmayan bağlanmaya rastlanmış, fakat baskılanmış polimer yüzeyinde bağlanma miktarının



Şekil 1.15: Kong ve arkadaşlarının magnetit parçacıklarının etrafını MBP ile kaplama basamaklarının şematik gösterimi [41].

belirgin bir şekilde artış gösterdiği görülmüştür. Sandviç yapı olarak hazırlanan ve polimer tabakası arasında altın nanoparçacıkları içeren örneklerde ise, yazarın bir önceki çalışmasında [54] açıkladığı nanoparçacık etkisi sebebiyle, seçici bağlanmanın oldukça iyileştiği gözlenmiştir.

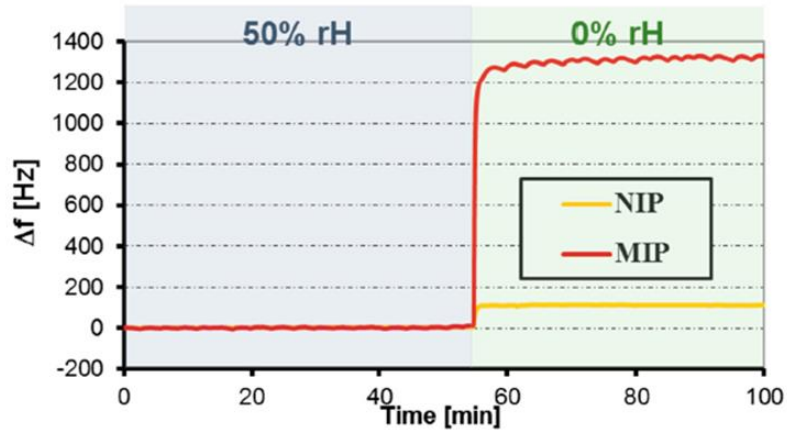
Sensör sisteminin seçiciliği ayrıca 25 ppm derişiminde başka organik çözücü buharlarının da yüzeyden geçirilmesiyle incelenmiştir. Aseton, asetaldehit, metil asetat, metanol ve su ile yapılan çalışmanın bu kısmında yüzeylerin en çok baskılanmış moleküllere hassasiyet gösterdiği görülmüştür. Özetle, hazırlanan sensör sistemi baskılanmış etil asetat ve formaldehit moleküllerine yüksek seçicilik göstermekte ve altın nanoparçacıklarının ortama eklenmesiyle sensör özelliğini güçlendirici etkisi görülmektedir.



Şekil 1.16: Sensör kaplamalarının 25 ppm derişimindeki farklı organik buharlara maruz bırakılmasının zamana göre normalize edilmiş KKM frekans cevabı [54].

Hussain ve arkadaşları, yine KKM ile formaldehit tayini için sensör sistemi hazırlamışlardır [55]. Zehirli ve kanserojen özellik taşıması sebebiyle formaldehitin tayini önemli olduğundan, grup bu alanda yapılmış ilk çalışmayı [56] referans olarak projeyi geliştirmişlerdir. Akrilat monomerlerinin kullanıldığı polimerlerin moleküler seçiciliği yüksek olduğundan, çalışmada metakrilik asit ve etilen glikol dimetakrilat monomerleri tercih edilmiş ve UV polimerizasyon gerçekleştirilmesi sebebiyle azobisisobütironitril (AIBN) başlatıcı olarak tercih edilmiştir. Formaldehit şablon molekülü reaksiyon ortamına dimetil formamid ile eklenmiştir. Ayrıca stiren monomeri ve alilamin çeşitli amaçlarla üretimin belli kısımlarında kullanılmıştır.

Akrilat monomerlerine ek olarak bu çalışmada stiren kullanılmasının sebebi, polimer ve hedef molekül arasındaki etkileşimi arttırmak için ortamın daha apolar olmasını sağlamaktır. Farklı derişimlerde formaldehit buharına maruz bırakılmış, baskılanmış ve baskılanmamış polimer kaplı KKM sensörlerinin etkisi izlenmiştir. Baskılanmamış ince filmlerden kaynaklanan frekans kaymaları baskılanmış olanlara göre çok düşük olarak kaydedilmiş ve bulma sınırı 1 ppm olarak kaydedilmiştir (Şekil 1.17). Fakat sonrasında hazırlanmış sensörlerin nemli ortamdaki performansları incelenmiş ve herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

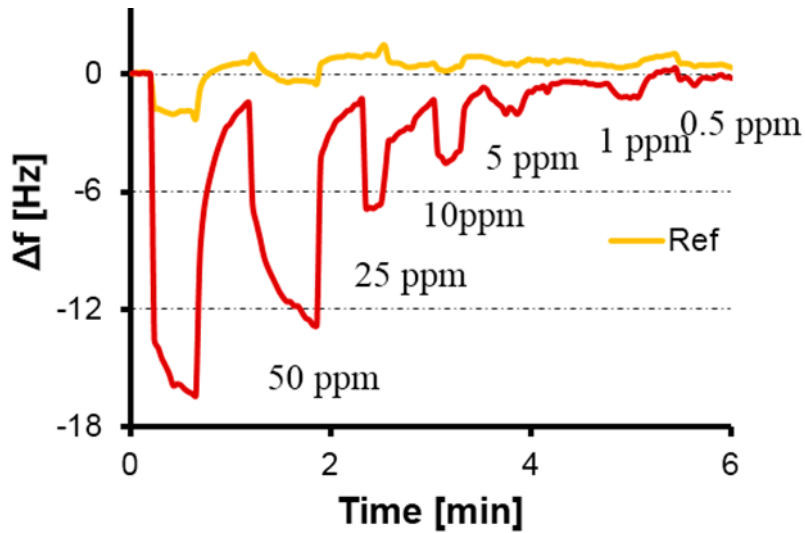


Şekil 1.17: %50 nemli bir hava akımından kuru havaya geçiş sırasında baskılanmış ve baskılanmamış ince filmlerin zaman-frekans değişimi grafiği [55]

Daha hassas ve seçici sonuçlar elde edebilmek için aynı sistem ince film yerine nanoparçacık olarak üretilmiştir. Böylelikle yüzey alanı artırılmış ve bağlanma noktalarının sayısı yükseltilmiştir. Sonrasında, su molekülleriyle yarış halinde olan formaldehit moleküllerinin yüzey tarafından daha çok tercih edilmesini sağlamanın yolu araştırılmıştır. Formaldehit yapısal olarak primer aminler ile reaksiyona girme

eğiliminde olduğundan ortama bir de alilamin eklenmiştir. Üretilen nanoparçacıkların boyutu 100-150 nm arası olarak kaydedilmiş, KKM elektrodu üzerindeki dağılım yine AKM mikroskobuyla takip edilmiş ve homojen bir yüzey gözlenmiştir.

Baskılamanın başarılı olduğunu gösterebilmek için yalnızca hassaslığın yetmeyeceğini düşünen grup, hazırladıkları sistemin seçiciliğini de incelemiştir. Formaldehite benzer 7 başka molekülün sensöre tutunması da takip edilmiş ve sadece gürültü seviyesinde cevap alınabilmiştir. Kullanılan moleküller kimyasal davranış ya büyüklük olarak formaldehitle benzerlik göstermesi kriterlerine göre seçilmiştir. Formaldehitin indirgenme ve yükseltgenme ürünü olan metanol ve formik asit, karbonil grubu fonksiyonel grubunu taşımada ortak olan asetaldehit ve aseton ile büyüklük açısından benzer olan diklorometan molekülleri tercih edilmiştir. Son olarak nemsiz ortamda hem ince film hem de nanoparçacıkların seçiciliği incelenmiş ve sonuçlar üç bağımsız deneyin ortalaması şeklinde raporlanmıştır. Bu iki yapının da seçiciliğinin oldukça yüksek ve benzer moleküllerin KKM analizlerinin yine gürültü seviyesinde gözlemlendiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak Hussain ve arkadaşları 500 ppb derişimine kadar formaldehit tayini yapabilen gaz sensörünü moleküler baskılama yöntemiyle hazırlamış ve KKM yöntemi ile başarıyla takip edebilmişlerdir (Şekil 1.18).



Şekil 1.18: Alilamin içeren nanoparçacıkların %50 nem içeren ortamda formaldehite maruz bırakıldığında kaydedilen KKM cevabı [55]

Panagiotopoulou ve arkadaşlarının 2016'da yayınladığı çalışmada, floresan ve yarı geçirgen nanokristaller olan kuantum noktacıkların genellikle hidrofobik özellik göstermekte olduğu ve sentezlerinin apolar çözeltiler içerisinde gerçekleştirildiği

vurgulanmıştır [57]. Fakat kuantum noktacıklarının (KN) biyoyumluluğunu arttırabilmek adına sulu çözeltilerde fonksiyonlandırılmasını mümkün kılmak gerekmektedir. Bu amaçla hidrofilik özellik taşıyan çapraz bağlanmış polimer tabakasıyla kaplanmış kuantum noktacıkları üretilmiştir. Bu kaplama işlemi, kuantum noktacıklarının her birinin iç ışık kaynağı olarak davranmasıyla polimerizasyon başlatılmış ve bu polimerizasyonla sentezlenen polimer yüzeyine glukonik asit (GlcA) ile N-asetilneuraminik (NANA) asit baskılanmıştır. Bu baskılamanın yapılabilmesi için her iki şablon molekülünün de karboksilik asit gruplarıyla güçlü elektrostatik etkileşime girebilen monomer (4-akrilamidofenil (amino) metaniminyum asetat) sentezi gerçekleştirilen grupun bu molekülleri baskılamayı seçmesinin sebebi hücrede enfeksiyon ve tümöre işaret eden glikasilasyon süreci sonucu ortaya çıkmalarıdır. Sonuç olarak 125 ± 17 nm boyutlarında, hücre içi glikasilasyonu hedefleyen hidrofilik polimer tabakası kaplı kuantum noktacıkları sentezlemeyi başarmışlardır.

Çalışmada kadmiyum tabanlı kuantum nanoparçacıklara göre daha zararsız olan indiyum fosfür (InP) ve çinko sülfid (ZnS) nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Bu nanoparçacıklar sırasıyla yeşil (550 nm) ve kırmızı (660 nm) renk vermektedirler. Hidrofilik özellik gösteren polimer tabakasını yeşil KN etrafına kaplamak için, 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve N, N'-etilen bis(akrilamid) (EbAM) monomerleri, eosin Y/trietilamin başlatıcı çifti varlığında ortama eklenmiş, ardından polimerizasyonun yeşil KN emisyonuyla gerçekleşmesi için UV ışığı altında bu noktalar aktive edilmiştir. KN emisyonu düşük olduğu için polimerizasyon yeri yüzey ile doğal olarak sınırlanmıştır. Kaplamanın başarılı olduğunu Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile görüntüleyip, Dinamik Işık Saçılması (DLS) yöntemi ile takip eden grup, kapladıkları tabakayı gösteren grup, KN'nı floresan bir tabakayla da kaplayarak modifikasyonun başarılı olduğunu ispatlamıştır.

İlk hidrofilik tabakanın kaplanması ardından moleküler baskılama işlemi gerçekleştirilmiştir. Şablon molekülü (GlcA), 4-akrilamidofenil (amino) metaniminyum asetat, metakrilamid (MAM) ve etilen glikol dimetakrilat (EDMA) monomerleri ile eosin/ trietilamin başlatıcı çifti varlığında ikinci tabaka baskılanmış polimer de UV ışığı altında elde edilmiştir. Kontrol grubu olarak şablon molekülsüz de sentez yapılmış ve çekirdek-kabuk yapıda hazırlanan KN bağlayıcılığı Sıvı Sintilasyon Sayımı (SSS) yöntemi ile takip edilmiştir. Bu yöntem düşük enerjili beta

yayıncılarının ölçülmesi temeline dayandığından moleküler bağlanmayı gerçekleştirecek olan şablon molekülü (GlcA) radyoaktif olarak işaretlenmiştir. Analiz sonucunda baskılanmış KN'ın baskılanmamış olanlara göre çok daha fazla miktarda tutunma gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca seçici bağlanma N-asetilgalaktozamin, N-asetilglukozamin, galaktoz, glukoz ve NANA molekülleri varlığında test edilmiş ve aşağıdaki grafik elde edilmiştir.

Nicel hücre görüntüleme çalışmaları yapılırken, moleküler baskılanmış kuantum noktacıkları insan deri hücrelerinin temelini oluşturan keratinositlerin üzerine tutturulmuştur. Fakat görüntüleme öncesinde KN, içerisinde kalıntı olarak rastalanabilecek eosin Y boyasını florışıldama ile bozunmaya uğratıp girişim oluşma ihtimalinden kaçınılmıştır. Analizin ardından baskılanmış parçacıklara, baskılanmamış olanlara oranla %42 daha fazla tutunma gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Aynı analiz lösemi KU812 hücrelerinde de gerçekleştirilmiş ve her iki durumda da yeşil renge sahip moleküler baskılanmış kuantum nanoparçacıklarının maviye boyandığı açık bir şekilde görülmüştür. Böylelikle renklendirme metodunun çeşitlendirilebilirliği de ispatlanmıştır. KN'na tutunmuş olan glukuronik asitin ortamdan uzaklaştırılmasının ardından baskılanmış kuantum noktalarından alınan floresans sinyalinde %40 azalma gözlenirken, baskılanmamış durumda herhangi bir değişim kaydedilmemiştir.

Grup, kuantum noktacıklarını fonksiyonlandırma konusunda da çeşitlendirilebilirliği göstermek istemiş ve ticari olarak elde ettikleri kırmızı KN'ı için aynı prosedürü izlemişlerdir. Yeşil KN üretimi ile birebir aynı yöntem ve kimyasalları kullanan grup kırmızı KN için başlatıcı çiftindeki eosin Y yerine, bu dalga boyu (660 nm) ile örtüşen metilen mavisini kullanmışlardır. Baskılanacak molekül olarak N-asetilneuraminik asit kullandıktan sonra yarışmalı bağlanma testi bu üretim için de tekrarlanmış ve N-asetilglukozamin, N-asetilgalaktozamin, galaktoz ve glukoz arasından en etkili bağlanmayı yine hedef molekülü göstermiştir. Nicel hücre görüntüleme çalışmalarında florışıldama ile bozunma basamağı yine uygulanmış ve baskılanmamış KN'a göre %48 daha fazla bağlanma gözlenmiştir.

Moleküler baskılı polimerlerin kuantum noktacıkları yüzeyine kaplanarak bir görüntüleme aracı olarak kullanıldığı ilk yayın özelliği taşıyan bu çalışmada, biyouyumlu hale getirilen kuantum noktacıklarının, glikasilasyon sürecinin tespit ve

takip edebilme amacıyla kullanılabilirdiği gösterilmiştir. Bu yöntemin glikosilasyon tanı ve tedavisinde yeni uygulamalara zemin hazırlayacağı düşünülmektedir.

Malzemelerin manyetik özelliklerini kullanarak ayırma tekniğini gerçekleştirme fikri Rembaum ve arkadaşları tarafından 1982 yılında rapor edilmiştir. Bunun ardından pek çok analitik ve biyoteknolojik çalışmada kullanılan bu malzemeler yıllar içerisinde geliştirilmiştir. Nano boyutta üretimin yanı sıra moleküler baskılama yöntemiyle birleştirilmiş sistemlerin üretilmiştir. Ben Aissa ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bu çalışmada magnetit nanoparçacıkları üretilerek etrafı moleküler baskılanmış polimer tabakası ile kaplanmış ve şablon molekülü olarak da biyotin ve biyotin bağlanmış farklı moleküller kullanılmıştır [58].

200 nm boyutunda sentezlenen magnetit nanoparçacıkları, her kaplama basamağının ardından ortalama 400 nm kadar büyüme gösterdiği, biyotin baskılı tabakanın yüzeyde elde edilmesinin ardından da yaklaşık 1 µm çapa ulaştığı görülmüştür. Ayrıca baskılanmış ve baskılanmamış nanoparçacık görüntüleri karşılaştırılmış, şablon molekülünün geride bıraktığı pürüzlülük dahi gözlemlenmiştir. Grup bir önceki çalışmalarında bu yapıların FTIR, manyetik histerezis, XRD ve azot adsorpsiyonu sonuçlarını paylaşmıştır [59].

Bağlanma testleri HPLC yöntemi kullanılarak takip edilmiştir. C18 kolonu kullanılarak yapılan analiz sırasında hareketli faz olarak 25 mM Na₂H₂PO₄ ve metanol karışımı kütlece 80/40 oranında kullanılmıştır. Akış hızı ise 1,0 mL dk⁻¹ olarak ayarlanmıştır. 10 mg baskılanmış ve baskılanmamış manyetik nanoparçacıklar derişimi 5-200 nm L⁻¹ arasında değişen biyotin çözeltisiyle birleştirilmiş ve döner karıştırıcıda 120 dakika boyunca karıştırılmıştır. Ardından nanoparçacıklar mıknatis yardımıyla ayrılmış, çözelti 0,45 µm gözenekli filtrelerden geçirildikten sonra HPLC kolonuna enjekte edilmiştir. Bağlanma kapasitesi aşağıdaki

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad 1.3$$

Q_e (mg g⁻¹), bağlanma kapasitesi C_0 başlangıç C_e denge derişimleri (mg L⁻¹), V çözelti hacmi (mL) ve m (mg) manyetik nanoparçacık miktarıdır. Bağlanma miktarının pH ve zamana göre olan derişimi incelenmiştir. 120 dakikada doyuma ulaştığı not edilen nanoparçacıkların en yüksek bağlanma gösterdiği pH ise nötral bölge olarak

belirtilmiştir. Çözelti düşük pH değerinde asidik özellik göstererek nanoparçacık yüzeyine kaplanmış polimeri protonlandığından, yüksek pH değerinde ise bazik özellik gösterip yüzeyi negatif yüklü duruma getirdiğinden bağlanma miktarında düşme gözlenmiştir.

Biyotin baskılanmış kopolimer tabakası kaplı magnetit nanoparçacıklarının seçiciliği farklı moleküllerin biyotin ile ve aynı derişimde nanoparçacık içeren çözeltime eklenmesi ve 120 dakika döner karıştırıcıda bekletilmesinin ardından test edilmiştir. Biyositin, pentilamin-biyotin, NHS-SS-biyotin ve 1-kloro-2,4,-dinitrobenzen kimyasalları bu amaçla kullanılmışlardır. Beklendiği gibi en çok seçiciliği biyotin moleküllerine gösteren nanoparçacıkların yüksek hassasiyet gösterdiği moleküller sıralamasında biyotin içeren diğer yapılar gelmektedir. Bu sonuçlar incelendiğinde biyobenzetim bağışıklık testleri için magnetit nanoparçacıklarının kullanmak oldukça parlak bir fikir olarak görüldüğünden grup bir sonraki çalışmalarını bunun üzerine gerçekleştirmiştir.

Bir önceki basamakta üretilen nanoparçacıkların karakterizasyonu ve olumlu sonuçların alınmasının ardından düşünülen sistem için üretim yapılmış ve şablon molekülü ile bağlanma testleri gerçekleştirilmiştir. Bağlanma eşodaklı mikroskop ve manyetik etkiyle başlatılabilen bağışıklık testleri ile takip edilmiştir. Eşodaklı mikroskop görüntüleme için ilk önce atto 665 boya bağlanmış biyotin molekülünün manyetik nanoparçacık yüzeyine tutunması izlenmiştir. İkinci olarak da G4 biyotin dendrimerinin yüzeye bağlanması gerçekleştirilip mikroskopta görünürlüğü sağlayabilmek için Cy-5 boyasıyla modifiye edilmiş streptavidin kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda biyotin içeren molekül eklenmemiş kontrol grubundan her iki örnek için de cevap alınamamış ve seçici olmayan bağlanma gözlenmemiştir. Atto 665 bağlı biyotin molekülünün ise boyutunun küçük olmasından dolayı yüzeye tutunmayla birlikte iç kısımlara da nüfuz ettiği görülmüştür. Streptavidin-Cy5 bağlanmış G4 biyotin dendrimerinin ise yalnızca yüzeyde bağlanabilir olduğu, boyutunun büyük olmasından dolayı baskılanmış polimer tabakasının iç bölgesine rahat bir şekilde giremediği gözlenmiştir.

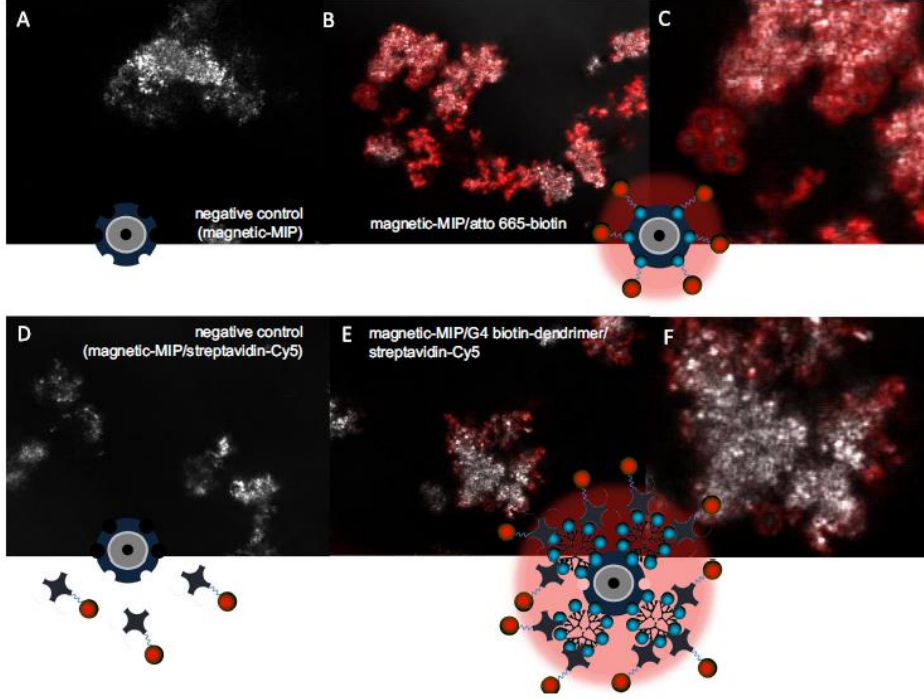
Baskılanmış nanoparçacıklar biyotin tutmada baskılanmamış olanlara göre oldukça yüksek performans sergilemiştir. Baskılanmamış nanoparçacıkların seçici olmayan

bağlanmayı izlemek adına rolü önemlidir. Grafik incelendiğinde seçici olmayan bağlanma olduğu görülmektedir, fakat eşodaklı mikroskop sonuçlarında bu durum desteklenmemektedir. Bu sebeple seçici olmayan bağlanma kaynağı olarak bağışıklık testlerinin gerçekleştirildiği mikrotitre plaka polistiren malzemesinden oluşmaktadır ve tutunmanın bu yüzeylerde gerçekleştiği öngörülmektedir.

Tespit limiti $0,823 \text{ ng mL}^{-1}$, bağlama kapasitesi ise mg nanoparçacık başına minimum $0,16 \text{ } \mu\text{g}$ biyotin-HRP olarak bulunmuştur. Aynı zamanda inkübasyon süresinin sürece etkisi de 30 dakikaya ek olarak 120 ve 240 dakika için de testlerin tekrarlanmasıyla gözlenmiştir. Sonuç olarak 30 dakika inkübasyon süresinin daha fazla bağlanma sağladığı görülmüş ve en uygun koşul olduğu gösterilmiştir (Şekil 1.19). Baskılanmış nanoparçacıkların bağlanma kapasitesine pH ve tampon çözelti çeşidinin de etkileri incelenmiştir. Sitrat, fosfat, borat ve TRIS tampon çözeltilerinin 6,4 ve 7,4 pH değerlerinde performansları takip edilmiş, sonuç olarak da sitrat ve TRIS tampon çözeltilerinin 7,4 pH değerinde bağlanmayı geliştirdiği görülmüştür.

Bir ucu biyotin diğer ucu dikoksijenin içeren E-koli O157: H7 DNA sarmalının manyetik etkiyle başlatılabilen bağışıklık testlerinde, biyotin-HRP prosedürüyle aynı yol izlenmiş, yalnızca substrat çözeltisi $100 \text{ } \mu\text{L}$ yerine $50 \text{ } \mu\text{L}$ olarak eklenmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılarak doğrusal olmayan regresyon yöntemiyle çift taraflı bağlanmaya uygun denklem oluşturulmuş ve derişim-absorbans grafiğine oturtulmuştur. Baskılanmış ve baskılanmamış nanoparçacıklar için bu denklemin R^2 değeri sırasıyla 0,9481 ve 0,9013 olarak hesaplanmıştır. Bu denklem kullanılarak tespit limiti $0,66 \text{ ng mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

Aynı grubun çalıştığı bu iki yayına bakıldığında manyetik nanoparçacıklar elde edilmiş ve polimer tabakası ile manyetik özelliği kaybolmadan kaplanarak biyotin ile baskılanmıştır. Gerçek süt örnekleri içerisinde bulunan biyotin tayinini başarılı bir şekilde gerçekleştiren grup ucuz, kolay ve oda sıcaklığında aktivitesini kaybetmeyen depolanma sistemi geliştirmiştir. Biyotin molekülüne olduğu kadar, bünyesinde biyotin içeren daha büyük moleküllerin de tayinini mümkün kılan bu çalışmanın devamında biyo-uyumluluk testleri hedeflenmektedir.



Şekil 1.19: Biyotin içeren moleküllerin bağlanmasının eşodaklı mikroskop ile karakterizasyonu. Manyetik MBP örneğine atto 665-biyotin kompleksinin bağlanması B ve C’de gösterilirken A kontrol grubu görüntüsünü içermektedir. Manyetik MBP örneğine G4 biyotin dendrimer ardından streptavidin-Cy5 ile inkübasyon E ve F’de, ayrıca seçici olmayan adsorpsiyon çalışması için D negatif kontrol D’de gösterilmektedir [59].

1.5 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Biyosensör Uygulamaları

Biyolojik reseptörlerin hedef moleküllerine bağlanmaları uzun yıllar araştırılmıştır. Bu doğal tanıma elemanları ile ligandları arasındaki kovalent olmayan etkileşimler biyosensör uygulamaları için temel oluşturmaktadır. Bu algılama platformları genellikle oldukça duyarlı ve seçici olmasına rağmen sıcaklık, pH veya iyon şiddeti gibi farklı koşullar altında çeşitli dezavantajlar oluşturabilmektedirler. Bu nedenle, sentetik reseptörler yardımıyla bu tür moleküler etkileşimleri gerçekleştirmek için yapılan çalışmaların sayısı azımsanamayacak kadar fazladır [60].

Doğal reseptörlerin etiketsiz dönüştürücülerle kombinasyonu, farklı dönüştürücü sistemlerinde başarılı bir şekilde uygulanabilse de biyolojik reseptörlerin çeşitli doğal dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin kimyasal ve fiziksel kararlılıklarının sınırlı olması sebebiyle raf ömürleri kısadır. Ayrıca doğadan saflaştırma yoluyla izolasyonları ya da sentezleri genellikle pahalı ve zor süreçler olmasının yanısıra çoğu dönüştürücü sisteminin yüzeyiyle olan uyumlulukları sınırlıdır ve etkili bağlanma için

ek bir tabaka tasarlanmasını gerektirir [61,62]. Bu dezavantajlar, antikor taklitleri olarak bilinen yapılar sayesinde aşılabilir. Sentetik reseptörler hedef moleküllerini doğal muadilleriyle karşılaştırılabilir oranda kendilerine bağlayabilen sağlam kimyasallardır. Günümüz literatürü incelendiğinde karşılaşılan en yaygın ve başarılı yaklaşım önceki bölümlerde (1.2) açıklanmış olan Moleküler Baskılanmış Polimerler (MBP)'dir. Doğal zorluklarla başa çıkmak için, moleküler baskılama kavramını yüzey baskısına doğru genişletmek umut vadeden bir yaklaşımdır: Burada, bağlayıcı boşluklar doğrudan çapraz bağlanmış bir polimer tabakasının yüzeyinde oluşturulur ve böylece şablonların çıkarılmasını kolaylaştırır [60].

Bir biyosensörün temel ögesi, spesifik bir uygulama ile tanımlanan konsantrasyon düzeylerinde hedef moleküllerini seçici olarak tespit etmeyi sağlayan biyolojik reseptördür. Biyosensörler, enzimlere [63] alternatif olarak DNA [64], aptamer [65,66] ve çeşitli hücreler [67,68] gibi diğer doğal reseptörleri de kullanabilirler. Moleküllerin reseptörlere bağlanması, arayüzeyde ölçülebilir fiziksel veya kimyasal değişikliklere sebep olur ve bu değişimler bir dönüştürücü yardımı ile analitik sinyallere dönüştürülür. Kullanılan en yaygın dönüştürücüler elektrokimyasal, gravimetrik ve optik okuma prensipleri ile çalışmaktadır [60].

MBP'ler şimdiye kadar sıvı kromatografisinde [69], kapiler elektrokromatografide [70] ve katı faz ekstraksiyonunda [71] etkili moleküler seçiciler olarak kullanılmıştır. Şablon molekülün MBP'e tutunduğunu tespit etmek için çeşitli dönüştürücüler kullanılmaktadır. Bağlanmaya duyarlı dönüştürücüler elektrokimyasal [72], optik [73] ve piezoelektrik [55] sensörlerden sinyal almak için kullanılmaktadırlar. Bağlanmaya duyarlı piezoelektrik sensörler gravimetrik olarak tayin prensibi ile çalışırlar, fakat hassaslıkları optik ve elektrokimyasal sensörlerden daha azdır. Elektrokimyasal sensörler elektroaktif kimyasalların teşhisinde kullanılırken, optik sensörler genellikle floresan özellik gösteren kimyasalların tayininde etkilidir. Reseptör sensörler ise kimyasalların optik, elektroaktif, floresan vb. özellik göstermeyen maddelerin tayininde de etkilidir [74,75]. Bu tür sensörler genel olarak iki farklı prensipte çalışırlar: Şablon molekülüne bağlanınca konformasyon veya özellik (floresan) değiştirme [76].

Çalışma prensibinden bağımsız olarak, üretilen sensörün başarısı oldukça büyük önem arz etmektedir. Performans takibi için deneysel olarak elde edilen sonuçlar farklı şekillerde yorumlanmaktadır. Tespit limiti, seçicilik, tekrarlanabilirlik, kullanım ve taşıma kolaylığı bu parametrelerden birkaçı olarak belirtilmektedir. Ayrıca analit molekülünün sensör yüzeyine iletilmesinin ardında alınan cevabın %95'inin elde edilmesi için geçen zamana tepki süresi adı verilir ve biyosensörler için karşılaştırılabilir bir özelliktir [77]. Sensör yüzeyinin yenilenebilir olması da birden fazla kere kullanıma olanak sağlayabilmesi açısından önemlidir. İnsan kanından glükoz tayin gibi önemli biyomedikal analizler için ise tek kullanımlık sensörler üretildiğinden uygun maliyet ön planda tutulmaktadır [78].

1.5.1 Elektrokimyasal biyosensörler

Biyosensör tanımının ilk olarak ortaya atıldığı öne sürülen Clark ve arkadaşlarının çalışmasında elektrokimyasal sistem tasarlanarak oksijen elektrotu geliştirilmiştir. 1955 yılında bu makalenin basılmasından sonra glükoz sensörü bir miktar modifikasyonun ardından üretilebilmiş ve ticarileştirilme 10 yıl kadar bir süre sonra başarılmıştır [77].

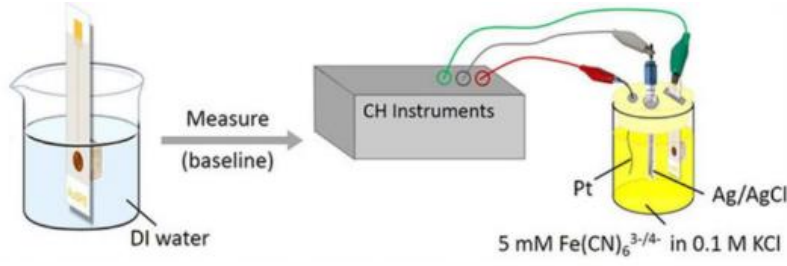
Yüzeyde tayine olanak sağlayan bu yöntemin çeşitli avantajları bulunmaktadır. İlk olarak reaksiyon hacminden bağımsız olması ve ölçüm sırasında düşük hacimlerde çalışmaya olanak sağlaması sayılabilir. Test edilecek örneğin hazırlanma süresinin kısa olması ile az miktarda (attomol) madde tayinine olanak sağlaması önemli üstünlüklerindedir. Ayrıca çözelti içerisinde yüzeye tutunmayacak maddelerin varlığı (kromofor ya florofor gruplar gibi) spektroskopik yöntemlerin aksine herhangi bir girişime sebep olmadığından renkli ve tortulu gerçek örneklerin analizini mümkün kılar [78].

Elektrokimyasal bir sensör üretiminde takip edilen reaksiyonun sonucunda ölçülebilen bir akım oluşturabilmesi, potansiyel veya yük birikmesi ya da elektrotlar arasındaki ortamda iletkenlik özelliklerinden birinde değişim meydana gelmesi gereklidir. Bu yöntemler sırasıyla amperometrik, potansiyometrik ve kondüktometrik teknikler olarak isimlendirilirler [79]. Sensör uygulamalarında bu teknikler yalnız kullanılabildiği gibi farklı kombinasyonlarda da karşılaşılabilmektedirler.

Elektrokimyasal sensörlerin duyarlı olduğu reaksiyonlar ancak elektrot yüzeyine yakın bir mesafede algılanabilmektedirler. Bu sebeple kullanılan elektrot, sensörün performansını belirlemede oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Üretildiği malzeme, boyutları ve yüzeyinin uygun bir şekilde modifikasyonu dikkat edilmesi gereken özellikler arasındadır [77]. Aynı zamanda çalışılacak pH, kullanılacak analit çözeltisi ve temas sıklığı elektrot ömrünü etkileyen faktörler arasında sayılabilir. Kullanım sonrasında uygun saklama koşullarının hazırlanabilmesi (sıvı içerisinde ya da kuru ortamda ve atmosferik koşullarda ya da azot altında saklama gibi) de elektrot ömrünü uzatmaya yardımcı olmaktadır [79].

Elektrokimyasal tayinde üç temel elektrot çeşidi kullanılır. Genellikle Ag/AgCl üretilen referans elektrodu hücreyi bilinen belirli potansiyelde sabit tutmak amacıyla reaksiyonun gerçekleşmesi beklenen bölgeden uzak bir yere yerleştirilir. Çalışma elektrodu kimyasal reaksiyonu tayin edecek şekilde tasarlanırken, karşı elektrot ise elektrolit çözeltisi ile çalışma elektrodu arasındaki bağlantıyı sağlayarak akım uygulanmasında rol oynar [79]. Kimyasal olarak dayanıklı ve iletken özelliklere sahip olması gereken elektrotların üretiminde grafit, altın ve platin gibi malzemeler kullanılmaktadır [78].

Amperometrik ya da voltametrik biyosensörler, elektroaktif bir kimyasalın yükseltgenmesi veya indirgenmesi sonucu oluşan akımı ölçme prensibi ile çalışırlar [79]. Akım ölçümünün sabit bir potansiyelde alınması amperometri, kontrollü değiştirilen potansiyelde alınması ise voltametri tekniği olarak bilinir. Elektrokimyasal sensörünün temelini atıldığı Clark ve arkadaşlarının çalışmasında bu tarzda çalışan elektrot üretilmiştir. Potansiyometrik metot ile çalışan sensörlerde ise elektrotlar arasında herhangi bir akım yok iken, referans elektroduyla kıyaslanarak çalışma elektrodunda biriken yük ölçümü gerçekleştirilir [77]. Yani bir elektrokimyasal reaksiyonun iyon aktivitesi hakkında bilgi edinebilmeyi mümkün kıldığından potansiyel ve derişim arasında bağlantı kurulabilmesi sağlar. Bu parametreler Nerst denklemi kullanılarak ilişkilendirilirler ve analit iyon derişiminin bu yol ile belirlenmesine doğrudan potensiyometri denir.



Şekil 1.20: Örnek elektrokimyasal sensör düzeneği şematik gösterimi [80].

$$E_{\text{hücre}} = E^0_{\text{hücre}} - \frac{RT}{nF} \ln Q \quad 1.4$$

Bu denklemde $E_{\text{hücre}}$ sistemden akım geçmiyorken elde edilen hücre potansiyelini temsil eder. $E^0_{\text{hücre}}$ ise standart koşullarda hücrenin potansiyelidir. R evrensel gaz sabitini, T (K) mutlak sıcaklığı, n elektrot reaksiyonuna dahil olan yük sayısını, F ise Faraday sabitini temsil etmektedir. Son olarak Q anottaki yük derişiminin katottaki yük derişimine oranıdır.

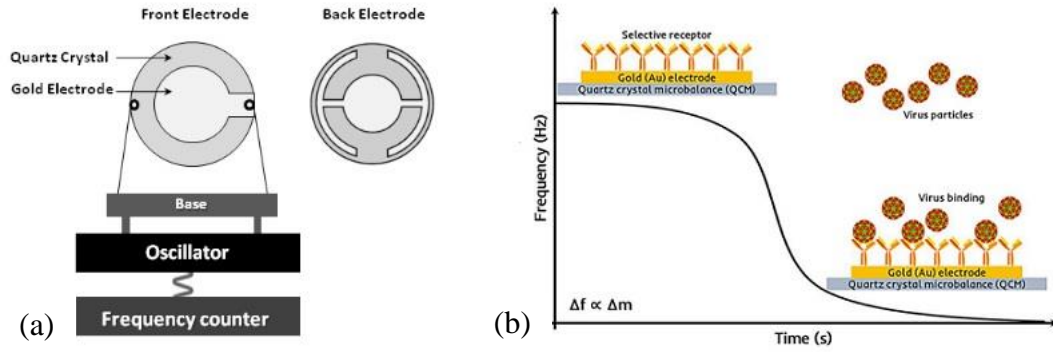
Amperometrik ve potansiyometrik yöntemlere ek olarak kondüktometri prensibi ile biyosensörlerin çalışması izlenebilir. Bu test, hücrede gerçekleşen kimyasal reaksiyon sonucunda çözeltide meydana gelen elektriksel iletkenlik değişimi takip edilerek gerçekleştirilir. Genellikle enzim gibi yüklenmiş ürünlerin iyon şiddetinde ve dolayısıyla iletkenlikte değişim meydana getiren maddeler için tasarlanan sensörlerin test edilmesinde kullanılan bir yöntemdir.

1.5.2 Kütle duyarlı biyosensörler

Literatürde gerçek zamanlı ölçümler yapabilen biyosensör çalışmaları gün geçtikçe artmaktadır. En sık kullanılan ve güvenilir olarak nitelendirilen sistemler rezonant kütle sensörleridir. Bu sistemlerde sensör, hedef moleküle maruz kalınmasından önce ve sonra gözlenen rezonans frekansının değişimini ölçer. Bu değişimden faydalanarak yüzeyde tutunan kütlenin miktarı belirlenebilir. Bu prensibe dayanarak kütle algılama ile ilgili çalışmalar yaygın olarak Kuvars Kristal Mikrodenge (KKM) sensörleri ile gerçekleştirilmiştir. KKM, kütle değişikliklerini elektrik sinyaline çeviren oldukça hassas bir piezoelektrik dönüştürücüdür [81].

KKM ölçümlerinde, alfa-kuvarsdan ince bir disk şeklinde kesilmiş tek kristallerden oluşan bir tabaka kullanılır. Bu kristal tabakasının iki yüzeyi de metal elektrot ile

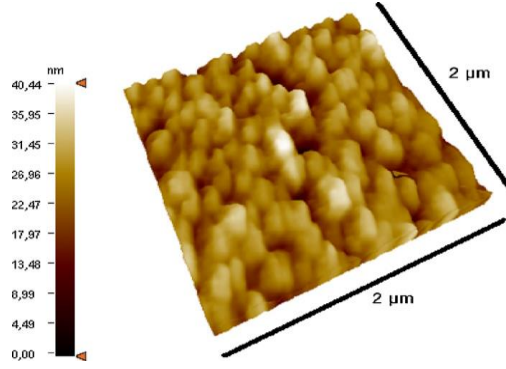
kaplanır. Buhar fazına geçirebilme kolaylığından dolayı genellikle Au metali kullanılırken; Cu, Ni ve Pt metalleri de tercih edilebilir. Alternatif bir elektrik alanı elektrotların üzerine uygulandığında, kuvars kristali salınım yapmaya başlar. Ölçümler, rezonans sensörünün kütlesindeki değişikliklere bağlı olan rezonans frekansındaki kaymaları izlemeye dayanmaktadır, çünkü moleküler etkileşimler doğrudan frekans değişimiyle ilişkilidir. Bu rezonans frekansı, metal yüzeyine hedef moleküllerinin adsorpsiyonu ile azalma eğilimi göstermektedir [81] (Şekil 1.21)



Şekil 1.21: Kuvars Kristal Mikrodenge (a) cihaz şeması [82] (b) sensrogram örneği [83]

KKM kullanılarak yapılan MBP tabanlı sensör çalışmalarından birisi Adil Denizli'nin çalışma grubunda gerçekleştirilmiştir [84]. Şener ve arkadaşları lizozim proteini saptamak amacıyla etilen glikol dimetakrilat içeren bir kopolimer baskılamışlardır. 50 nm civarında elde edilen MBP nanoparçacıkları çözelti içerisinde hazırlayarak altın yüzeyine damlatmış (Şekil 1.22) ve hazırlanmış sensörü vücut ısısında 6 saat kurutma işlemi uyguladıktan sonra test etmişlerdir. Saptama sınırını 1,2 ng/mL olarak tespit eden grup KKM sensörünün hem sulu çözeltiler hem de doğal kaynaklarda (tavuk yumurtası akı) yüksek seçicilik ve duyarlılığa (0.2-1500µg/mL) sahip olduğunu rapor etmiştir.

Biyosensör uygulamalarının yanı sıra KKM yönteminin karakterizasyon amacıyla da kullanıldığı literatürde yer almıştır. Akut ve kronik astım rahatsızlıklarında kullanılan ilaçların etken maddesi teofilin kimyasal baskılanmış politertiyofen polimeri Pernites ve arkadaşları tarafından hazırlanmıştır. Performansı Yüzey Plazmon Rezonans (YPR)



Şekil 1.22: Lizozim baskılanmış KKM sensörünün Atomik Kuvvet Mikroskobu görüntüsü [84]

cihazı ile takip edilen biyosensörün üretim basamağında KKM, üretilen baskılanmış film kalınlığını izlemek amacıyla kullanılmıştır. Birim alan başına düşen mutlak kütle değişikliklerini gözlemlemek için oldukça hassas bir ölçüm olan KKM teknolojisi ile karakterize edilmiş MIP tabakası hedef molekül olan teofilin için hassas ve seçici özellik göstermiştir. Ultra ince algılayıcı filmlerin üretiminde ümit vaat eden bir yaklaşım olduğu belirtilmiştir [85].

Viking ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise KKM ve YPR yöntemleri kan plazmasının pıhtılaşması izlenerek performansları karşılaştırılmıştır. Fakat bu çalışmada kütle frekans değişimi yoluyla belirlendiği klasik KKM'nin geliştirilmiş bir versiyonu kullanılmıştır. Frekans ve enerjinin dağılımını eş zamanlı takip etme olanağı sağlayan KKM-D yöntemi, klasik KKM'ye göre daha iyi performans gösterdiğinden tercih edilmiş, YPR sonuçlarını daha iyi yorumlayabilmek ya da bu iki yöntemin birleştirilmesinin yalnızca bir tanesinin kullanıldığı duruma göre çeşitli avantajlar sağlayabilme olanağı incelenmiştir. Sonuç olarak, her iki yöntemin de farklı derişimlerde pıhtılaşmaya duyarlılık gösterdiği belirlenmiş, fakat YPR tekniğinin gerçek zamanlı ölçüm için daha uygun olduğu çünkü yanıt süresinin KKM-D cihazına kıyasla daha kısa olduğu rapor edilmiştir [86].

Hoshino ve arkadaşları 2008 yılında bir biyotoksin olan melitini farklı akrilik polimerlere baskılamışlardır [87]. Polimerik nanokürelerin şablon molekülünü bağlama kapasitesi ise KKM ile takip edilmiştir. 30-40 nm çapında elde edilen nanoküreler KKM probu üzerinde homojen olarak dağılmış bir şekilde elde edilmiştir. Maksimum tutma kapasitesi gösteren polimer nanokürenin bileşimi %5 akrilik asit ve %40 N-terts-bütül akrilamid içermektedir. Baskılanmamış polimerlerin melitini az

miktarda tuttuğu kaydedilmiştir. Tasarlanan sistemin aynı zamanda albumin, fibrinojen ve globülin moleküllerine karşı eğilimi de test edilmiş ve melitinin diğerlerinden oldukça fazla tutunduğu gösterilmiştir. Bu sebeple baskılama işlemi sonrasında elde edilen kavitelerin yalnızca melitini tamamlayıcı yapıda olduğu vurgulanmıştır.

1.5.3 Optik biyosensörler

Yüzey plazmonlar ilk olarak 1902'de Wood tarafından gözlenmiştir [88]. Polikromatik ışığı metalik yüzeye düşürdüğünde elde ettiği spektrumda dar karanlık bantlar olduğunu fark etmiş ve anormallikler olarak isimlendirmiştir. Sonrasında Otto[89], Kretschmann ve Reather [90] gibi isimlerin çalışmalarıyla teorik bilgi kaynağı sağlanmış ve yüzey plazmonlar modern fiziğe dahil edilmiştir. 1970'lerde ince filmlerin karakterizasyonu için kullanılan yöntemin daha sonra lazer [91], optik veri kaydetme [92] ve optik sensör [93] uygulamalarında tercih edilmeye başlanmıştır.

Elipsometre, interferometre ve spektrofotometre yaygın olarak kullanılan optik teknikler arasında sayılabilirler. Yüzey plazmon rezonans spektroskopisi ise bu yöntemler ile kıyaslandığında çeşitli üstünlüklere sahiptir. Öncelikle sistemi bu yöntemlere kıyasla daha basittir ve elde edilen sonuçlar yüksek hassasiyete sahiptir. Toplam iç yansıma gerçekleştirildiği için sinyal güçlendirmek amacıyla yüzeyin ekstra bir muameleye tabi tutulmasına gerek kalmaz. Optik dalga kılavuzu ile birleştirilerek geliştirilen YPR cihazları incelen yüzeyin kırılma indisi ve kalınlık tayinine ek olarak anizotropisi hakkında da bilgi verebilmektedir. Ayrıca diğer sistemlerde tayin gerçekleştirilebilmesi için etiketleme yapılması gerekirken YPR spektroskopisinde moleküllerin anlık ışık absorplama özelliği sayesinde ölçüm alındığından böyle bir zorunluluk yoktur. Bu durumda etiketlemeden kaynaklı olarak gerçekleşebilecek girişim ve yapısal değişimlerin sonucu etkilemesinin önüne geçilmiş olur.

Yüzey plazmonlar, ince metal film boyunca dağılım gösteren elektromanyetik yüzey dalgalarıdır ve Maxwell teorisi ile açıklanabilirler. Plazmonlar, aynı enerjiye sahip ışık dalgasından daha uzun dalga vektörüne sahiptirler. Yüzey elektron yoğunluğunun dalgalanmasına göre 'ışınımsız' (nonradiative) olarak tanımlanırlar. Bu sebeple aynı frekansa sahip foton ya da ısı olarak enerjilerini kaybederler. Elektromanyetik alan maksimumu yüzeyde görülmek üzere, ortam içinde üstel olarak sönümlenir.

1.5.3.1 Düz yüzeylerde yüzey plazmon oluşumu

Yüzey plazmonların oluşumunu anlamak için öncelikle dielektrik akım yoğunluğu ve manyetik akım yoğunluğu içeren Maxwell denklemleri incelenmelidir.

$$\begin{aligned}\nabla \cdot \vec{D} &= 0 & \nabla \times \vec{E} &= -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \\ \nabla \cdot \vec{B} &= 0 & \nabla \times \vec{H} &= -\frac{\partial \vec{D}}{\partial t}\end{aligned}\tag{1.5}$$
$$\begin{aligned}\vec{D} &= \epsilon \epsilon_0 \vec{E} \\ \vec{B} &= \mu \mu_0 \vec{H}\end{aligned}$$

ϵ ve ϵ_0 boşluktaki dielektrik sabiti ve dielektrik geçirgenliğini temsil ederken, μ ve μ_0 ise ortamın ve boşluğun manyetik geçirgenliğidir. E ve B sırasıyla elektrik ve manyetik alanı temsil ederken, D ve H sırasıyla yer değiştirme akımı ve mıknatıslanmadır.

Yüzey plazmonların metal yüzeyinde gerçekleştirdiği salınımların frekansı dağılım ilişkisi (dispersion relation) $\omega(K_x)$ aracılığı ile dalga vektörüne K_x bağlıdır. z -ekseninde oluşan dalgaların elektromanyetik alanı sonsuza giderken sönümlenir. Bu alan aşağıdaki şekilde ifade edilir:

$$E = E_0 \exp[\mp i(k_x x + k_z z - \omega t)]\tag{1.6}$$

Denklemin $z \leq 0$ için negatif (-) ve $z \geq 0$ için ise pozitif (+) kısmı alınmalıdır. E_z, K_z 'nin sanal kısmı nedeniyle üstel olarak azalma gösterir. $K_x = 2\pi/\lambda_p$ iken λ_p plazma salınımlarının dalga boyunu ifade eder. Dielektrik fonksiyonu $\epsilon_1 = \epsilon' + i\epsilon''_1$ olan düz metal yüzeyin hava ya da vakum ϵ_2 ortamına komşu olduğu durumda elde edilen dağılım ilişkisi fonksiyonları ise aşağıdaki gibidir:

$$D_0 = \frac{k_{z1}}{\epsilon_1} + \frac{k_{z2}}{\epsilon_2} = 0\tag{1.7}$$

$$\epsilon_1(\omega/c)^2 = k_x^2 + k_{z1}^2\tag{1.8}$$

K_x yüzey boyunca süreklidir ve dağılım ilişkisi fonksiyonları ise aşağıdaki gibidir:

$$z < 0 \quad H_1 = (0, H_{y1}, 0) \exp(i k_{x1} x + k_{z1} z - \omega t)$$

$$E_2 = (E_{x1}, 0, E_{z1})\text{expi}(k_{x1}x + k_{z1}z - \omega t)$$

$$z > 0 \quad H_2 = (0, H_{y2}, 0)\text{expi}(k_{x2}x + k_{z2}z - \omega t)$$

$$E_2 = (E_{x2}, 0, E_{z2})\text{expi}(k_{x2}x + k_{z2}z - \omega t)$$

k_{x1} ve k_{x2} x yönünde, k_{z1} ve k_{z2} ise z yönündeki dalga vektörleridir. Süreklilik ilişkisine göre:

$$E_{x1} = E_{x2} \quad 1.10$$

$$H_{y1} = H_{y2} \quad 1.11$$

$$\epsilon_1 E_{z1} = \epsilon_2 E_{z2} \quad 1.12$$

Süreklilik denklemleri $z < 0$ koşulu denklemlerinde yerine konursa vakum ortamı için $k_{x1}=k_{x2}=k_x$ olarak elde edilir.

$$c = \frac{1}{\sqrt{\epsilon_0 \mu_0}} \quad 1.13$$

Denklem 1.13 ve 1.9, 1.5. denklemde yerine koyulursa:

$$+k_{z1}H_{y1} = -\frac{\omega}{c}\epsilon_1 E_{x1} \quad 1.15$$

$$+k_{z2}H_{y2} = +\frac{\omega}{c}\epsilon_2 E_{x2}$$

D_0 determinanı sıfıra eşit olduğunda dielektrik sabiti zıt işaretli olan farklı iki maddenin sınırında yüzey plazmon oluşur. Süreklilik ilişkisi (1.Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.) ile birleştirildiğinde dağılım ilişkisi aşağıdaki şekilde elde edilir:

1.14

$$k_x = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2} \right)^{1/2}$$

$|\epsilon'_2| > \epsilon''_2$ koşulunu sağlayan bir metal ($\epsilon_2 = \epsilon'_2 + i\epsilon''_2$) ve dielektrik ($\epsilon_1 > 0$) ara yüzeyi için karmaşık k_x aşağıdaki gibidir:

$$k_x = k'_x + ik''_x \quad 1.16$$

$$k'_x = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\varepsilon_1 \varepsilon_2'}{\varepsilon_1 + \varepsilon_2'} \right)^{1/2} \quad 1.17$$

$$k''_x = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\varepsilon_1 \varepsilon_2'}{\varepsilon_1 + \varepsilon_2'} \right)^{3/2} \frac{\varepsilon_2''}{2\varepsilon_2'} \quad 1.18$$

1.5.3.2 Yüzey plazmonların alanın genişlemesi

$|\varepsilon'_2| > \varepsilon_1$ varsayımı durumunda:

$$k_{z1}^2 \approx \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 \left(\frac{\varepsilon_1^2}{\varepsilon_1 + \varepsilon_2'} \right) \quad 1.19$$

$$k_{z2}^2 \approx \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 \left(\frac{\varepsilon_2'^2}{\varepsilon_1 + \varepsilon_2'} \right) \quad 1.20$$

k_{z1} ve k_{z2} dalga vektörleri sanaldır ve yüzey plazmon alan şiddeti üstel olarak azalma gösterir. Alan şiddetinin 1/e olarak gözlemlendiği kalınlık aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\hat{z} = 1/k_{zi} \quad 1.21$$

Metal-dielektrik ara yüzeyinde gözlenen yüzey plazmonların şiddetindeki azalma şu şekilde elde edilir:

$$E_x \propto e^{-2|k_x''||x|} \quad 1.22$$

Yayıma uzunluğu ise aşağıda gösterilmektedir:

$$L_x = \frac{1}{2|k_x''|} \quad 1.23$$

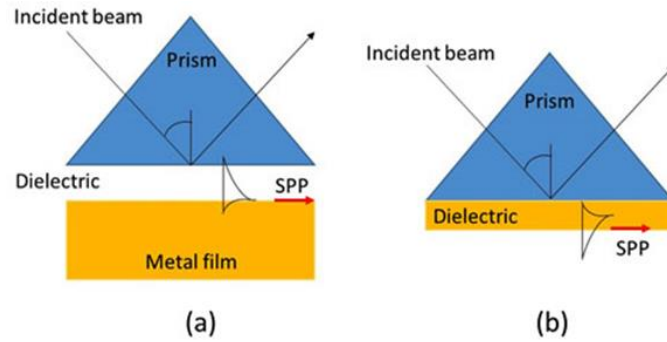
1.5.3.3 Yüzey plazmonların ışık ile uyarılması

Işık ile yüzey plazmonların uyarılması, aynı enerjiye sahip ışık dalgasından daha uzun dalga vektörüne sahip olmalarından dolayı oldukça zordur. Belirli bir foton enerjisinde ($\hbar\omega$), yüzey plazmon elde edebilmek için dalga vektörü ($\hbar\omega/c$) Δk_x kadar artırılmalıdır. Yüzey plazmonların toplam iç yansımaya ve ağ yapılı bağlaştırıcı (grating couplers) ile uyarılması bu artışı sağlayabilmektedir.

Toplam iç yansımaya yöntemi incelenecek olursa, momentum uyumsuzluğunu giderebilmek için deney düzeneklerinde iki farklı prizma dizilimi kullanılabilir [94]. Otto adı verilen dizilimde fotonlar direk olarak metal-dielektrik ara yüzeyine

düşürülmek yerine, fotonların sönmölenen kısmı ile bir prizma tabanında toplam iç yansıması sağlanır (Şekil 1.23: Yüzey plazmon rezonans (a) Otto ve (b) Kretschmann konfigürasyonları -a). Bu ışık daha büyük momentum ile tanımlandığından, uygun geliş açısı elde edildiğinde sönmölenen foton ve yüzey plazmonları arasında rezonant örtüşme sağlanabilir. Bu örtüşme, prizma tabanından yansıyan ışık şiddetinin geliş açısına bağılı olarak değişimi takip edildiğinde gözlemlenebilir. Deneysel olarak keskin bir minimum noktası elde edilir.

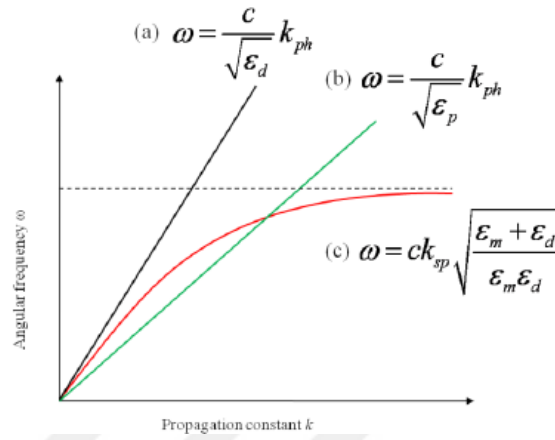
Otto dizilimine ek olarak Kretschmann ve Rather farklı bir dizilim önermişlerdir. Bu dizilim direk olarak prizma tabanına ya da indis eşleştirme sıvısı ile prizma tabanına eklenmiş lama metal kaplanarak elde edilir (Şekil 1.23: Yüzey plazmon rezonans (a) Otto ve (b) Kretschmann konfigürasyonları -b). Böylelikle prizmadan geçen yüksek momentuma sahip ışık metal ortamına dahil olur. Sistemde kullanılan metal tabakasının kalınlığı örtüşme açısını ve verimini direk olarak etkiler. Fresnel denklemleri yardımıyla bu bağıntı simüle edilebilir. Metal yüzeyine farklı kırılma indisine sahip bir molekülün tutunması yüzey plazmon dalga vektöründe bir kaymaya sebep olur. Rezonant örtüşmesinde değişime yola açan bu tutunma yansıma açısının gözlemlendiği minimum yansımayı de etkiler. Yüzey plazmon rezonans açısı, sistemde kullanılan metal tabakasının özellikleri, gelen ışığın dalga boyu ve metal filmin iki tarafında bulunan ortamın kırılma indisinden etkilenir. Kırılma indisi sıcaklığa bağılı bir değer olduğu için ölçümlerin belirli bir sıcaklıkta gerçekleştirilmesi önemlidir [95].



Şekil 1.23: Yüzey plazmon rezonans (a) Otto ve (b) Kretschmann konfigürasyonları [94]

Altın, oksidasyon ve diğere atmosferik kirliliklere karşı oldukça dayanıklı olmakla birlikte kimyasal modifikasyona uygun bir metaldir. Gümüş metali daha dar rezonans piki sağlanmasına rağmen, ölçümler genellikle hava ya da bir çözücü ortamında gerçekleştirildiğinden yüzey oksidasyonu gibi istenmeyen reaksiyonlar oluşabilir. Bu

sebeple altın daha kararlı bir yapıda olduğundan YPR uygulamalarında daha sık kullanılır. Altın tabakasının en uygun film kalınlığı ise 50 nm olarak belirlenmiştir. Kullanılan ışık kaynağının tek renkli ve p-polarize olması gerekir. Metal tabakası, gelen ışık ve sıcaklık sabit tutulduğunda sistemde meydana gelen sinyal farklılıklarının tek kaynağı ortamda tutunma veya ayrılmadan meydana gelen kırılma indisi değişiklikleri olur. Moleküllerin sensör yüzeyine bağlanması kırılma indisinde değişime sebep olmakta bu durum da rezonans açısı ($\Delta\theta$) ya da dalga boyunda değişim ($\Delta\lambda$) olarak izlenmektedir. Bu değişim yüzeye tutunan molekül sayısı ile doğru orantılıdır.



Şekil 1.24: Bir dielektrik (a), prizma (b) ve metal-dielektrik arayüzündeki (c) fotonların dağılma ilişkisi

1.5.3.4 Yüzey plazmon ile alan güçlendirme

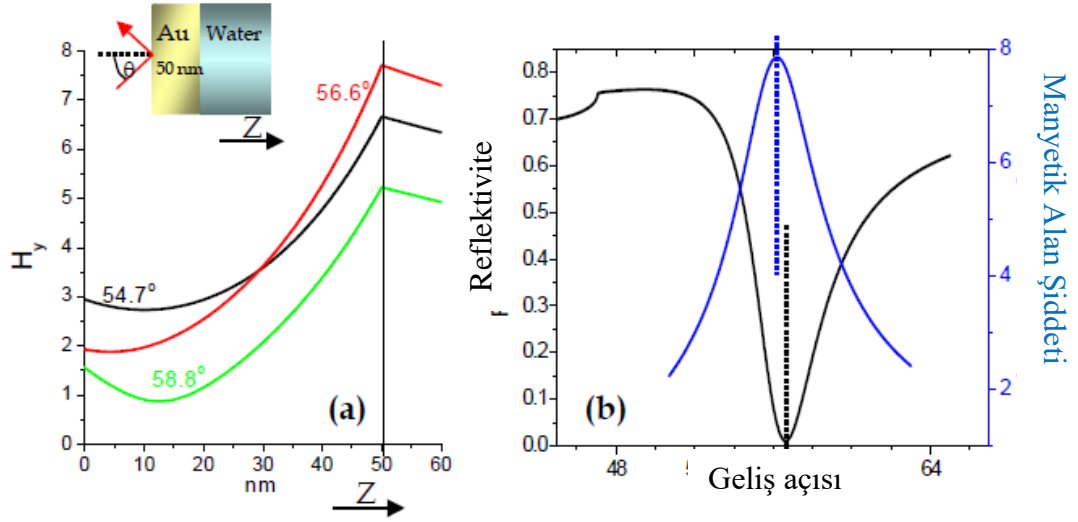
Yüzey plazmon rezonans oluşumunda, gelen ışığın enerjisi yüzeyde birikir, böylelikle elektromanyetik alan şiddeti kuvvetlenir. Cam-su ara yüzeyinde gözlenebilen en yüksek güçlendirme faktörü kritik açıda 4 olarak elde edilir. Fakat prizma tabanı 50 nm kalınlığında altın metali tabakası ile kaplandığında bu değer 16'ya kadar çıkarılabilmektedir.

Reflektivite minimumunun gözlemlendiği geliş açısına ulaşıldığında ara yüzeydeki elektromanyetik alan maksimum şiddette görülür. Güçlendirme miktarı ise metal-dielektrik ara yüzeyindeki alan şiddetinin şiddetinin ($|H_y(2/1)|^2$) gelen alan şiddetine ($|H_{y0}(0/1)|^2$) oranı olarak elde edilir.

Genel olarak amaçlanan elektrik alan arttırışının maksimum olarak elde edilmesidir.

$$\left(\frac{|H_y(2/1)|^2}{|H_{y0}(0/1)|^2} \right)_{\max} = \frac{\epsilon_2}{\epsilon_1} \left(\frac{|H_y(2/1)|^2}{|H_{y0}(0/1)|^2} \right)_{\max}$$

Şekil 1.25 incelendiğinde reflektivite minimumunun gözleendiği açı ile maksimum alan şiddetinin elde edildiği açı arasında fark olduğu dikkat çeker. Bu fiziksel olayı açıklayabilmek için sistemi gelen ışık odaklı rezonant olarak düşünmek gerekir. Metalin dielektrik sabitinin sanal kısmı (ϵ'') rezonans kaymasından sorumludur ve ϵ'' arttıkça daha fazla kayma görülür.



Şekil 1.25: Farklı geliş açılarında metal tabakası içerisindeki elektromanyetik alan kuvveti (a) ve 50 nm kalınlığındaki altın tabakasında meydana gelen alan güçlenmesi

Yüzey plazmonların oluşumunu Snell yasası ve Fresnel denklemleri ile incelemek gerekirse, ışığın optikçe yoğun ortamdan daha az yoğun ortama geçişi sırasında ışığın bir kısmı geliş açısıyla yansırken bir kısmı da Snell yasasına göre kırınıma uğrar.

$$\sin \theta_t = \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_i \quad 1.25$$

Toplam iç yansıma açısı denklemde geçirilen ışık için 90° değeri kullanılarak hesaplanabilir.

Yansıma ve geçirgenliğin açığa bağıllığı Maxwell ya da Fresnel denklemleri ile açıklanabilir.

$$r_s = \frac{n_2 \cos \Theta_i - n_1 \cos \Theta_t}{n_2 \cos \Theta_i + n_1 \cos \Theta_t} \quad r_p = \frac{n_2 \cos \Theta_t - n_1 \cos \Theta_i}{n_2 \cos \Theta_t + n_1 \cos \Theta_i}$$

$$t_s = \frac{2n_1 \cos \Theta_i}{n_2 \cos \Theta_i + n_1 \cos \Theta_t} \quad r_p = \frac{2n_1 \cos \Theta_t}{n_2 \cos \Theta_i + n_1 \cos \Theta_t}$$

Yüzey plazmon elektromanyetik dalgası, toplam iç yansıma açısından sonra belirli bir geliş açısında uyarılır. Bu açıda ışık metal tabakası içerisinde dağılır ve yüzey plazmonları oluşur. Bunun için gelen ışık ile yüzey plazmonların dalga vektörleri eşit olmalıdır.

$$k_x = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} \quad 1.27$$

Yüzey plazmon dalga vektörünün momentumu her zaman gelen ışıktan fazla olacağı için eşleşme sağlayabilmek adına özel bir dizilim kullanmak gerekmektedir. Bu amaçla daha önce de bahsedildiği gibi prizma ya da ağ yapılı bağlaştırıcı tercih edilir.

Yüzey plazmonları elektromanyetik dalganın metal yüzeyine dik bileşeni ile uyarılırlar. Bu sebeple p-polarize ışık (TM modu) ile plazmonlar oluşturulabilirken s-polarize ışık (TE modu) ile elde edilemezler.

Yüzey plazmonları metal tabakasında meydana gelen molekül tutunması gibi durumlara karşı oldukça hassastır. Plazmon rezonansında meydana gelen bir değişim Fresnel denklemlerine göre kırılmayı da değiştirecektir. Bu sebeple yaklaşık olarak 200 nm kalınlığa kadar olan ince film karakterizasyonu örneğe bu yöntem ile herhangi bir zarar vermeden gerçekleştirilebilir. Penetrasyon derinliği gelen ışığın dalga boyundan yaklaşık olarak 200 nm daha küçüktür [96,97] ve aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$d_{\frac{1}{e}} = \frac{\lambda}{2\pi} \left[\frac{n_1^2}{n_2^2} \sin^2 \Theta_i - 1 \right]^{-\frac{1}{2}} \quad 1.28$$

Yüzeyin optik yoğunluğunun artması rezonansın yüksek bir açıya kaymasına sebep olur. Bu değişim açısız tarama ya da belirlenmiş sabit bir açıda gerçek zamanlı kinetik ölçüm alınarak izlenebilir. Rezonans açısındaki kayma yüzeye tutunan madde miktarı ile doğru orantılı olarak değişir. Bu durumda sistemin kalınlığı ya da kırılma indisi gibi parametreleri açısız spektrumun simülasyonu yardımıyla belirlenebilir.

Metal tabakası üzerinde tasarlanmış ince filmin kırılma indisi ve kalınlığına ek olarak iki farklı varsayım ile ağırlığı da tayin edilebilmektedir. İlk yaklaşımda kırılma indisindeki artışın yüzeye tutunan maddenin derişiminden bağımsız olduğu farz edilir. Bu durumda birim yüzeyde bulunan madde miktarı (Ds) aşağıdaki denk 1.29 hesaplanır:

$$D_s = t \left[\frac{(n - n_2)}{dn/dC} \right]$$

n ve n₂ sırasıyla adsorplanan ince film ile ortamın kırılma indisleri, dn/dC ise adsorplanan madde ile meydana gelen kırılma indisi artışıdır. Bu varsayım yalnızca kırılma indisi artışının belirli olduğu durumda kullanılabilir. Ayrıca sistemdeki kırılma indisi artışının maddenin derişiminden bağımsız olduğu kabulü unutulmamalıdır.

Bir diğer yaklaşım ise daha genel olan Lorentz-Lorenz ilişkisi ile tanımlanmıştır. Bu durumda sistemde birden fazla maddenin yüzeye adsorplandığı kabul edilir. A_i molar refraktivite, N_i ise mol cinsinden birim hacimdeki madde miktarı olmak üzere:

$$\frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} = A_1 N_1 + A_2 N_2 + \dots \quad 1.30$$

Saf bir madde için kütle yoğunluğu (D) kırılma indisi cinsinden şu şekilde ifade edilir:

$$D = MN = M/A \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \quad 1.32$$

t (nm) kalınlığında bir filmin ağırlığı µg/cm² cinsinden aşağıdaki formül ile hesaplanır:

$$M = Dt = 0,1 M/A \left[t \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \right] \quad 1.31$$

Kinetik ölçüm gerçekleştirilirken zamana bağlı olarak yansıma izlenir. Bu durumda ışığın geliş açısı sabittir. Kinetik ölçümün izleneceği geliş açısına YPR eğrisi incelenerek karar verilir. Maksimum ve minimum yansıma değerleri okunarak, orta noktanın ya da dörtte üçünün denk geldiği açı kinetik ölçüm sırasında yansımayı net olarak takip edebilmek için uygundur.

1.5.3.5 Yüzey plazmon rezonans biyosensör sistemleri

Yüzey Plazmon Rezonans biyosensörler, sistemde bulunan metal tabakası üzerinde herhangi bir molekülün yerleşmesi sonucu (kemisorpsiyon veya fizisorpsiyon ile) meydana gelen kırılma indisi değişimlerini algılama prensibine göre çalışırlar. İki önemli kısımdan oluşurlar:

- I. Yüzey plazmonları uyarılması ve izlenmesi için gerekli optik parçalar,
- II. Biyomolekül algılayıcı parça (BAP)

BAP, sensör yüzeyi ya da duyarlı tabaka içine sabitlenebilir. Analit moleküllerinin BAP ile etkileşime girmesi sonucunda kırılma indisi değişimi gerçekleşerek yüzey plazmon eşleşme koşulunu değiştirir. Bu sebeple yüzey plazmonları ile örtüşme gösteren ışığın özelliklerinde meydana gelen değişimleri izlemek moleküler bağlanmayı takip etmeye olanak sağlar.

YPR sensörünün yüzeyinde meydana gelen biyomolekül tutunma ve ayrılması çeşitli mekanizmalar tarafından yönlendirilir ve biyosensör cevabının biçimi üzerinde etkilidir. Bağlanma kinetiği moleküllerin yüzey ile etkileşimi hakkında bilgi verirken, verilerin analizi bağlanma hız sabiti tayin etmeye yardımcı olur.

Langmuir adsorpsiyon modeli:

Christensen tarafından detaylı açıklanan sistemde, belirli bir ligand ile kaplanmış yüzey ile çözünmüş şekilde yüzeyden geçirilen ve bu liganda bağlanabilen molekül bulunmaktadır. Analit ve ligand arasındaki etkileşim iki basamaklı bir süreç olarak ifade edilebilir. Birincisi analit molekülünün akış alanından yüzeye kütle transferinin gerçekleşmesidir. Sonrasında ise sensör yüzeyinde analit ve ligand arasında kimyasal etkileşim meydana gelir.

Kütle transferi ve Etkileşim kontrollü model:

Kütle transferi etkisi Darmköhler sayısı (Da) ile ölçülür. k_a bağlanma hız sabiti, D difüzyon sabiti, h ve L ise akışın gerçekleştiği geometrinin yükseklik ve uzunluğu iken Da aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$D_a = k_a[\text{Ligand}] \left(\frac{v_{\max} D^2}{hL} \right)^{-1/3}$$

Darmköhler sayısı büyükse ($Da \gg 1$) sensör profili tamamen difüzyon kütle transferi modeline uygunluk gösterir. Bu durumda akış çözeltisinde bulunan analit molekül miktarı önem kazanmaktadır. Molekül derişiminin ve bağlanma süresinin artması kütle transferini de arttıracığından dolayı tespit sinyali şiddeti güçlenme gösterir.

Darmköhler sayısının küçük olduğu durumda ($Da \ll 1$) kütle transferi yüzeyde gerçekleşen etkileşimden daha hızlı meydana gelir. Bu durumda kütle transferi etkisi göz ardı edilebilir.

Yu ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, seçici olmayan protein adsorpsiyonunu azaltabilen poligliserol tek ve çift tabakalarını oluşturulmuş ve bu oluşumu izlemek için YPR yöntemi kullanılmıştır. Seçici olmayan protein adsorpsiyonunun önüne geçebilmek için moleküler ağırlık ve tabaka kalınlığının optimizasyonu YPR ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, biyolojik sistemlere adapte edilebilen ve belirli alt katmanlarla (Au veya gümüş yüzeyi) sınırlandırılmayan, elektrostatik etkileşim yoluyla yüklü poligliserol yüzeyleri üretebilmek için basit bir strateji önermektedir [98].

Dostalek ve arkadaşları kırılma indisi değişiminden faydalanarak etiketsiz algılamayı bir adım öteye taşıyan YPR cihazını Floresans Spektrometresi ile birleşimini kullanmıştır. Bu çalışmada Uzun Erimli (Long Range Surface Plasmon) Yüzey Plazmon (UEYP) sistemi kullanılmış ve geleneksel YPR'ye göre, etiketlenmemiş moleküller yüzeye bağlandığında ölçülen floresans yoğunluğunda 12 kata kadar artma gözlenmiştir. İnce bir floropolimer katmanının altın tabakasına kaplanmasıyla düşük sönümlenme sağlanmasının bu artışta etkili olduğu vurgulanmıştır[99]. Gelecekteki araştırmalarda dekstran fırçaları veya hidrojeller gibi polimerleri kullanarak, biyomoleküler bağlanmayı UEYP ile incelemeyi öngören Dostalek yüksek bağlanma kapasitesi sonucunu gösterdiği çalışmalarını teorik [100] ve deneysel [101] olarak yayınlamıştır.

Gitsas ve arkadaşları düzenli tekrarlayan nanoçubuklar üretmiş ve Optik Dalga Klavuzu (ODK) simülasyonlarında dalga modu elde etmeyi başarmışlardır [102]. Aynı

grup devam ettirdiği çalışmada 60 nm çap ve 650 nm uzunluğundaki nanoçubuk dizilimlerinin yüzeyinde bulunan sülfonik asit gruplarının modifikasyon kolaylığı sağladığını vurgulayarak uygulama rneği vermiştir. Nanoçubuk yzelerine taurin bağlanmasının kinetiğini ODK spektroskopisinde açısal kaymalarla izleyen grup, bu dizilerin yapısal olarak esnek biyosensörlerin tasarımı için çok yönlü bir platform oluşturabileceğine dikkat çekmiştir [103].

Bu tez çalışmasında, ileride portatif olarak yüzey plazmon rezonans spektroskopisinde kullanılabilecek moleküler baskılı nanoyapılara sahip (nanoçubuk ve nanoküre) dönüştürücülerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Tezin ilk aşamasında nanoçubuk geometrisi üzerine yoğunlaşılmışken, moleküler baskılama yönteminin nanoçubuk yapılarda kısmen başarılı olmasından dolayı, yüzey karakterini ayarlamaya imkn sağladığından ve yüzey alan/hacim oranı oldukça yüksek olduğundan silika nanoparçacıklarının da moleküler baskılama yöntemi ile fonksiyonlandırılması ilgimizi çeken bir yöntem olmuştur. Bu amaçla RAFT polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Tez alışması süresince silika nanoparçacık, azo başlatıcı ile modifiye edilmiş silika nanoparçacıkları, 2-fenilprop-2-il ditiyobenzoat RAFT ajanı ve L-fenilalanin anilid şablon moleküllerinin sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. RAFT ajanı sentezinde Gazi Üniversitesi, Kimya Bölümü'nden Prof. Dr. Tuncer aykara'nın grubunun bilgi ve tecrübesinden yararlanılmıştır.

Nanoçubuk ve nanokürelerin kimyasal ve yüzey topografisi özellikleri sırasıyla X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), taramalı elektron mikroskobu (TEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) yöntemleri ile incelenmiştir. rnlerin altın kaplanmış cam alttaş üzerine sabitlenmesinin ardından yüzey plazmon rezonans (YPR) yöntemi yardımıyla biyosensör performans analizleri gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen nanoyapıların yüksek kırılma indisli cam yüzeyine kaplanmış altın tabakası üzerinde düzenli bir şekilde fabrikasyonundan önce, biyosensörün ideal nanoyapı boyutlarının tespiti için Etkin Ortam Teorisi (Effective Medium Theory EMT) kullanılarak teorik olarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Teorik hesaplamalarda elde edilen veriler ışığında tasarlanan nano yapılı dizilimler yüzey plazmon rezonans spektroskopisi (YPR) ile şablon molekülü için bağlanma testlerine tabi tutulmuştur.

Isı, ışık ve kimyasala dayanıklı polisiyanat ester nanoçubuklarının üretimi düzenli bir şekilde yalnızca düz cam yüzeyler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra altın tabakası ile kaplanan bu nanoçubukların plazmonik özellikleri ise UV spektrumları incelenerek takip edilmiştir. 180 nm çapında ve 600 nm uzunluğundaki nanoçubukların başarılı sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Küçük bir molekül olan sisteamin ile deneme yapıldıysa da gözlenen değişimin hata payı aralığında kalması daha büyük bir molekül olan bovin serum albumin (BSA), organik tekstil boyaları v.b. analitler ile yeni testler yapılmasını gerektirmiştir. Tezin büyük bir kısmı nanoyapıların sentezi ve ince filmlerin yüzey modifikasyonu ve yüzey kimyasallarının sentezi işlemleriyle geçmiştir. Tezin son aşamasında ise elde edilen nanoyapıların gerek ucuz alttaş (BK7) kullanılan minyatür YPR düzenenğinde gerekse geleneksel masaüstü YPR düzeneninde şablon molekülü tanıma, seçicilik ve hassasiyet testleri gerçekleştirilmiştir. Tez kapsamında sentezlenen nano yapıların yüzey fonksiyonlarının türü ve yoğunluğu gözönüne alındığında bu yapıların aynı zamanda sucül orttamdaki kirleticileri (tekstil boyaları, ağır metaller, bakteri v.b.) tutma potansiyelleri de hem adsorpsiyon testleri (UV spektrokopisi) ile hem de YPR analizleri ile takip edilmiştir.



2. DENEYSEL GEREÇLER, YÖNTEMLER ve TEORİK HESAPLAMALAR

2.1 Gereçler

Etanol, tetraetil orthosilikat (TEOS), 1-hekzadesil trimetilamonyum bromür (CTAB), amonyum hidroksit (NH₄OH), 3-aminopropiltrioksil silan (APTES), gluteraldehit (GA, su içerisinde %50), dallanmış polietilenimin (PEI, Sigma Aldrich verilerine göre MA ~ 25 KDa, Mn ~ 10 KDa), diklorometan (DCM), 4,4'-Azobis(4-siyanopentanoik asit) (ACPA), azobis izobutironitril (AIBN), trietilamin (TEA), metanol, sodyum metoksit, elementel kükürt, benzil klorür, dietileter, hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), magnezyum sülfat (MgSO₄), α -metilstiren, dikloroetan, p-tolüensülfonik asit, anilin, dimetil formamid (DMF), N,N-disikloheksilkarbodiimid (DCC), 1-hidroksibenzotriazol (HOBt), 3 Å moleküler elek, sodyum bikarbonat (NaHCO₃), sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄, 97%), sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄, 98%), kloroform, etilasetat, trifloro asetik asit (TFA), tolüen, metakrilik asit, etilen glikol dimetakrilat, lipoik asit, sistamin ve H₃PO₄ Sigma- Aldrich, Almanya'dan satın alındı. Hekzan, asetik asit ve silika jel temini Merck, Almanya tarafından yapılırken, L-BOC-fenilalanin (L-BPA, MW= 265,3 g/mol), L-Boc-Triptofan (L-BTP, MW= 304,3 g/mol) ve L-Boc-tirosin (L-BTS, MW= 281,3 g/mol) ise Alfa Aesar, Almanya'dan Alizarin Kırmızısı S (ARS) Eyer Chemical Reagents, Çin, Ksilenol kırmızısı (XO) Unichem Chemical Reagents, siyanat ester monomeri (Primaset PT-30) Lonza, İsviçre firmalarından temin edilmiş ve alındığı gibi kullanılmıştır.

2.2 Cihazlar

2.2.1 Sentez işlemlerinde kullanılan cihazlar

Camag Marka 254 ve 366nm çift dalga boylu UV Lambası, Heidolph Marka Hei-Vap Precision MI/G3 model döner buharlaştırıcı, MTI marka, EQ-VGB-1 model masa üstü glove box, Hermle marka Z 206A model santrifüj, Mettler Toledo marka Seven2Go model pH metre, LAB312 marka kar tipi buz makinası, Nichipet EXII marka 0,1-2

μL , 0,5-10 μL , 2-20 μL , 10-100 μL mikro pipetler, Bandelin Sonorex marka RK52H model ultrasonik banyo, IRMECO marka SLN 53 STD model etüv, Heidolph marka RA19458 MR Hei-Tec model manyetik karıştırıcı-ısıtıcı, Binder marka VD model yüksek vakum fırını, Mettler Toledo marka JE703C/M model hassas terazi ($d=0,1$ mg), ISMATEC marka ISM831C model peristaltik pompa ve iç çapı 0,13 mm olan tygon boru.

2.2.2 Karakterizasyon amaçlı kullanılan cihazlar

2.2.2.1 Sıvı nükleer manyetik rezonans spektrometresi (NMR)

RAFT polimerizasyonunda gerekli olan RAFT ajanı ve baskılama molekülü olan L-Boc-Fenilalanin anilid kimyasallarının sentezlerinin sonucunda elde edilen ürünün kimyasal yapısını doğrulamak ve safsızlık kontrolü sağlamak amacıyla kullanılmıştır. CDCl_3 ortamında çözünen maddelerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları Bruker AVANCE III 400 MHz Sıvı NMR Spektrometresi (~ 9 Tesla) ile elde edilmiştir.

2.2.2.2 Dinamik ışık saçılımı (DLS)

Sentezi gerçekleştirilen silika nanoparçacıkların boyut tayini Malvern ZetaNano ZS zetasizer tane boyu ölçer ile gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak nanoparçacıkların farklı çözücü ortamlarındaki kararlılığını gözlemlemek amacıyla zeta potansiyel ölçümleri alınmıştır.

2.2.2.3 UV spektrometresi

Baskılama işleminin gerçekleştirildiği polimerizasyon sonrasında sistemden şablon molekülün uzaklaştırılması Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis Absorpsiyon Spektrometresi ile takip edilmiştir. Nanoparçacıkların yıkama sayısı bu yöntem ile kararlaştırılmıştır.

2.2.2.4 Brunauer–Emmett–Teller (BET) gözenek boyutu analiz cihazı

Baskılanmış ve baskılanmamış polimer tabakası ile kaplanmış silika nanoparçacıkların yüzey alanı karşılaştırması Nova 1000e BET Gözenek Boyutu Analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.5 X-Işını fotoelektron spektrometresi (XPS)

Silika nanoparçacık yüzeyinin fonksiyonlandırıldığı her basamak sonrasında hedeflenen tabakanın varlığını test etmek amacıyla yüzey taraması ve uygun elementin yüksek çözünürlüklü taraması incelenmiştir. Bu analiz Mg K α (1253,6 eV) kaynaklı Thermo Scientific K-Alpha X-ray Fotoelektron Spektrometresi (XPS) 300 W ve 117,40 eV geçiş enerjisinde çalıştırılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.6 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Bu yöntem silika nanoparçacıkların boyut tayini ve YPR ölçümleri için hazırlanan sensör tabakasının homojenitesini inceleme amaçlarıyla kullanılmıştır. Görüntüleme FEI Quanta 200 FEG Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 5 kV elektron hızlandırma voltajıyla gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.7 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

Altın tabakası üzerine sabitlenen silika nanoparçacıkların dağılımını incelemek amacıyla Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) olarak PSIA XE-100 temazsız modda tip olarak k=40 N/m, altın kaplı uç ile çalışılmıştır.

2.2.2.8 Termogravimetrik analiz (TGA)

Silika nanoparçacık yüzeyine kaplanan her bir organik tabakanın varlığını tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. Ölçümler oda sıcaklığından 900°C sıcaklığa kadar 10°/dakika hızında ve azot ortamında TGA Q50 V6.2 Build 187 termogravimetrik analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.9 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

Mezogözenekli silika parçacıkların yüzeyine kaplanmış tabakaları tespit etmek için ATR-FTIR spektra Alpha Bruker Almanya cihazı ile spektrumlar kaydedildi.

2.2.2.10 Cam alttaş yüzeyine altın kaplanması

Altın kaplanma işlemi MPIP'de Gabi Herman tarafından gerçekleştirilmiştir. 2 nm Cr tabakası üzerine 50 nm altın metali ısı buharlaştırma yöntemi ile LaSFN9 yüksek kırılma indisli cam üzerine kaplanmıştır.

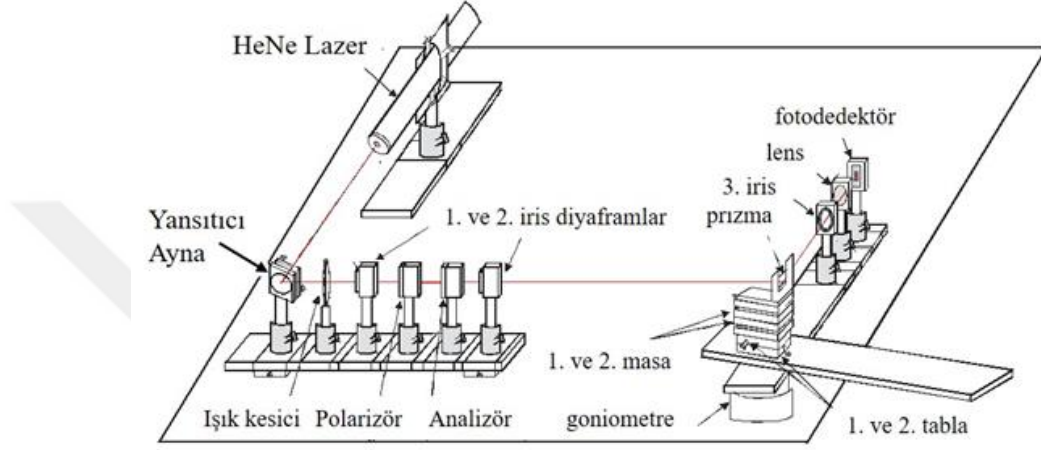
2.2.2.11 YüzeY plazmon rezonans spektrometresi (YPR)

Bu çalışmada iki farklı YPR cihazı kullanılmıştır. Silika nanoparçacık içeren sensör sistemi klasik YPR ile kopolimer ince film tabakası içeren sensör sistemi ise Bilkent Üniversitesi, UNAM'dan Dr. Aykutlu Dana tarafından geliştirilen Nanoeye Flexpr-d3 YPR ile çalışılmıştır.

Biyotarayıcı ölçümlerde kullanılan yüzeY plazmon rezonans spektroskopisi cihazı Kretschmann konfigürasyon olarak adlandırılan prizma-birleştirmeli yöntem kullanılarak Max-Planck Enstitüsü Polimer Araştırma merkezinde geliştirilmiş ve 2011 tarihinde TOBB ETÜ'ye teslim edilmiştir. Cihazın optik parçalarının ayrıntılı gösterimi Şekil 2.1'de gösterilmektedir. Işın kaynağı olarak HeNe ($\lambda=632,8$ nm) lazer kaynağı kullanılmıştır. Yaklaşık 2nm Cr filmi üzerine 40-50 nm kalınlığında Au tabakası yüksek vakum metal evaporasyon cihazı ile oluşturulmuştur. Alttaş olarak yüksek kırılma indisli cam (LaSFN9, Hellma Optik, $n= 1,845$) malzeme kullanılmıştır. Alttaş yüksek kırılma indisli prizma üzerine index uyumlu yağ (Cargill Laboratories Inc., $n=1,70$) kullanılarak monte edilmiştir [102].

Bu geometride, gelen ışın bir prizmadan altın metal tabakası üzerine yayılır. Bir ışın, kritik açıdan (θ_c) daha büyük bir açı ile bir cam-prizma tabanı üzerine yönlendirildiği zaman, Schnell kanunlarına göre, ışın tamamen dâhili arayüzeyde (total internal reflection, TIR) yansır. Tam bu noktada, metalde bulunan serbest elektronun yük yoğunluğundaki dalgalanmalar ile elektrik alan birleşir ve bir yüzeY-plazmonu uyarılmış hale geçer. Bu anda, ışının momentum ve enerjisinin korunumu nedeniyle, metal yüzeye dik ve şiddeti üstel olarak azalan bir evanesan-dalga üretilir. Evanesan-dalga arayüzüne paralel olarak yayılır. Bu yüzeY-elektromanyetik dalgaların evanesan karakteri ona eşsiz bir arayüzey duyarlılığı ve seçiciliği sağlar. Eğer metal film üzerine ek bir dielektrik katmanı (çevresinden daha yüksek kırılma indisi olan) dahil edilirse, gelen ışın yüzeY plazmonu ile sızıntılı dalga klavuzu-modları (leaky guided-modes) oluşturur. YüzeY-plazmon rezonans (YPR) (sadece P-polarizasyon için) ve uyarılan dalga klavuzu modları (P- ve S-polarizasyonun her ikisi de) yansıyan ışının şiddetindeki ani bir düşüş şeklinde gözlenir. Dalga klavuzu modları ile birleşen (coupled) ışının momentumu altın tabakasının refraktif indeksi ve kalınlığı, MBP-nanoyapıların boyutu ve tüm bunları çevreleyen ortamın dielektrik özelliklerine

bağlıdır. Bu nedenle, optik tanıma yöntemi örneğin MBP-nanomalzemelerin üzerindeki afinite kavitelerine L-Boc-Fenil alanin anilit (L-BFA) analit molekülünün yerleşmesiyle oluşacak kırılma indisi değişiklikleri ölçülmesine dayanmaktadır. Deney düzeneği ile bilgisayar arasındaki bağlantı bir kart ile gerçekleştirilmiş olup, plazmon rezonans pikleri “Wasplas” (Andreas Scheller, MPIP Mainz tarafından geliştirilmiştir.) isimli bir program ile okunmuş ve veriler Winspal yazılımı ile fit edilmiştir.



Şekil 2.1: Çeşitli optik bileşenlerle birlikte (lazer, aynalar, lensler, pin-hole v.b.) SPR deney düzeneğinin teknik gösterimi (Bu düzenek dışarıdan bir masaüstü bilgisayar, adım motor kontrol ünitesi ve bir adet Lock-In amplifier cihazına bağlanmıştır).

Portatif yüzey plazmon rezonans cihazı (Nanoeye marka Flexpr-d3 model) Bilkent Üniversitesi, Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'dan Aykutlu Dana'nın grubu tarafından geliştirilmiştir. Tez kapsamında bu portatif YPR cihazına moleküler baskılı nanoyapılardan oluşan dönüştürücü (transducer) arayüzü tasarımı üzerinde çalışılmıştır. Nanoeye Flexpr-d3 YPR sıcaklık kontrollü ve BK7 cam ($n=1,52$) ile çalışmaya olanak sağlayan kapalı minyatür bir sistemdir. Klasik YPR cihazların aksine taşınabilir ve daha ucuzdur.

Portatif cihazın kullanım maliyeti de oldukça düşüktür. Geleneksel YPR cihazlarında pahalı cam malzeme (LaSFN9) kullanılmasının sebebi, cihazın açısal tarama limitinin çok geniş olmasının ($\Delta\theta=90^\circ$) ancak yüksek kırılma indisli bir cam alttaş varlığında gerçekleşmesindedir. Dr. Dana'nın grubunun farklı bir şekilde tasarladığı paket-SPR düzeneğinin piyasadaki mevcut YSPR düzeneklerinden ayrılan en önemli avantajlarından bir tanesi ucuz cam alttaşlar kullanımına izin vermesidir, ancak açısal tarama limiti çok sınırlıdır ($\Delta\theta=25^\circ$). Geliştirmiş olduğumuz dönüştürücülerin pratik

kullanım ve ticari ürün olarak pazarlanabilmesi açısından LaSFN9 türü pahalı bir cam alttaş (2,5x2,5 cm birim fiyat 13.2 Euro, Hellma Optics) yerine çok daha ucuz olan optik mikroskop camı, BK7 (2,2x2,2 cm, kalınlık 0,16mm, birim fiyatı 0,7 TL) kullanılması hedeflenmiştir.

2.3 Programlar

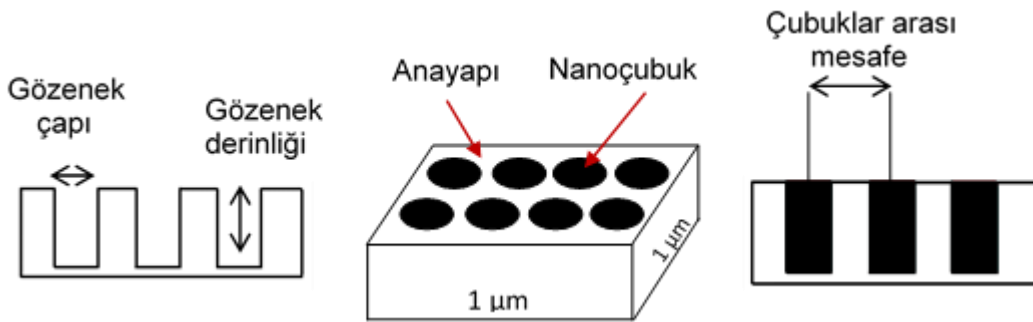
Grafiklerin hazırlanması ve cihazlardan alınan ham verilerin analizi için ticari Origin 8.0®, Thermal Analysis®, MestRenova®, ChemDraw®, ImageJ®, Gwyddion® ve Winspal® programları kullanılmıştır.

2.4 Nanoçubuk Yapıların Etkin Dielektrik Sabiti Hesaplamaları ve Dalga Kılavuzu Performans Simülasyonları

Nanoçubuk çapları 35, 65, 180 ve 280 nm ile nanoçubuklar arasındaki mesafe 100, 165, 500 ve 500 nm kabul edilmiştir [102,104,105]. AAO şablonlarına ait olan bu değerler, membranda oluşturulmuş porlar hakkında bilgi vermektedir. Bu porlarda oluşturulan polimerlerin boşluk hacim fraksiyonu, porların miktarıyla paralellik gösterir. Bu sebeple AAO membranlar için gözeneklilik formülü aynı zamanda bu şablonlarla oluşturulan nanoçubukların boşluk hacim fraksiyonu vermektedir [28].

$$P = \frac{2\pi}{\sqrt{3}} \left(\frac{R}{d} \right)^2 \quad 2.1$$

P gözeneklilik yani hacim oranını verirken R nanoçubukların yarıçapıdır. d ise çubuklar arası mesafe olarak isimlendirilir. Bu mesafe komşu iki gözenegin merkezleri arasındaki uzaklıktır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Nanoçubukların hesaplamalarda kullanılan ölçülerinin üretim şablonu olan anodik alümina membran geometrisi üzerinde gösterimi

Nanoçubukların boşluk hacim fraksiyonu, Denklem 35'e ek olarak geometrisi üzerinden de hesaplanmıştır. 1 µm genişlik ve derinlik ile nanoçubukların boyu kadar yüksekliğe sahip birim hacim baz alınmıştır. Bu birim hacme sığan nanoçubuk sayısı belirlenmiş ve her bir nanoçubuğun silindir geometrisinde olduğu varsayılmıştır. Denklem 36'da belirtildiği üzere, bir silindirin hacmi, silindir sayısı ile çarpılarak, tüm hacime bölünmüş ve boşluk hacim fraksiyonu hesaplanmıştır.

$$V_f = \frac{N(\pi R^2 H)}{V} \quad 2.2$$

Denklem 35 ile yapılan hesaplamalar aşağıdadır.

Çap/Boy

$$35/250: \quad V_f = \frac{2\pi \left(\frac{17,5}{100}\right)^2}{\sqrt{3}} = 0,111$$

$$65/250: \quad V_f = \frac{2\pi \left(\frac{32,5}{165}\right)^2}{\sqrt{3}} = 0,141$$

$$180/600: \quad V_f = \frac{2\pi \left(\frac{90}{500}\right)^2}{\sqrt{3}} = 0,118$$

$$280/1: \quad V_f = \frac{2\pi \left(\frac{140}{500}\right)^2}{\sqrt{3}} = 0,246$$

Denklem 36 ile yapılan hesaplamalar aşağıdadır.

Çap/Boy

$$35/250: \quad V_f = \frac{100(\pi(17,5 \cdot 10^{-3})^2 250 \cdot 10^{-3})}{1 \cdot 1 \cdot 250 \cdot 10^{-3}} = 0,096$$

$$65/250: \quad V_f = \frac{100(\pi(32,5 \cdot 10^{-3})^2 250 \cdot 10^{-3})}{1 \cdot 1 \cdot 250 \cdot 10^{-3}} = 0,119$$

$$180/600: \quad V_f = \frac{100(\pi(90 \cdot 10^{-3})^2 600 \cdot 10^{-3})}{1 \cdot 1 \cdot 250 \cdot 10^{-3}} = 0,102$$

$$280/1: \quad V_f = \frac{100(\pi(140 \cdot 10^{-3})^2 1)}{1 \cdot 1 \cdot 250 \cdot 10^{-3}} = 0,246$$

Denklem 2.3 sonucunda elde edilen boşluk hacim fraksiyonu değerleri aşağıdaki düzenlenmiş denklemde yerine konmuş ve Matlab programında kod yazılarak çözülmüştür.

$$\epsilon_{\text{nanoçubuk-hava}} = \epsilon_{\text{hava}} \frac{\epsilon_{\text{hava}} + (f_{\text{nanoçubuk}} + f_{\text{hava}} P)(\epsilon_{\text{nanoçubuk}} - \epsilon_{\text{hava}})}{\epsilon_{\text{hava}} + f_{\text{hava}} P(\epsilon_{\text{nanoçubuk}} - \epsilon_{\text{hava}})} \quad 2.3$$

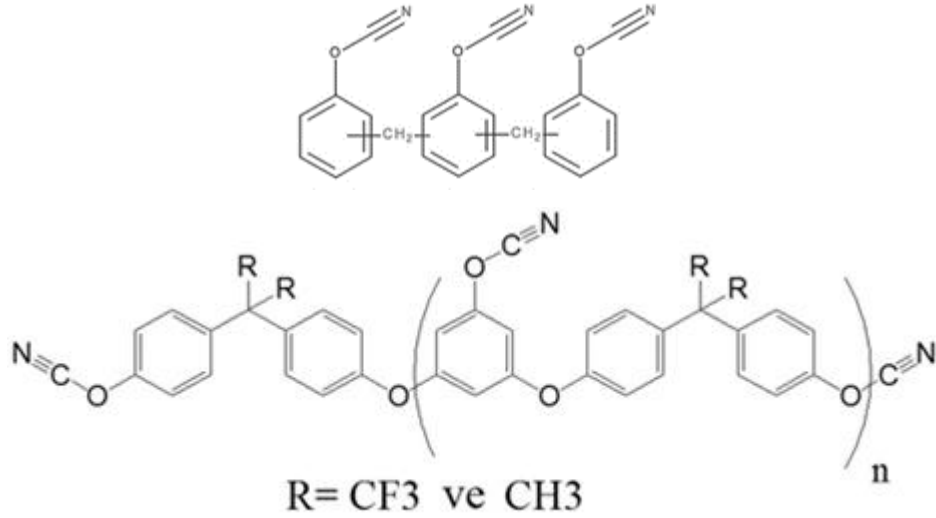
Bu doğrultuda yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen değerler yukarıdaki denklemde hava, su ve PBS ortamlarındaki dielektrik sabitlerinin hesaplanması için kullanılmıştır. Çizelge 1’de belirtilen sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 1: Farklı boyuttaki nanoçubukların çubuklararası mesafe, hacim oranları ile hava, su ve PBS ortamındaki dielektrik sabiti değerleri ($\epsilon_{karışım}^i$; i: ortam)

Hesaplama yöntemi	Nanoçubuk çapı	Çubuklar arası mesafe	Boşluk hacim fraksiyonu	$\epsilon_{karışım}^{hava}$	$\epsilon_{karışım}^{su}$	$\epsilon_{karışım}^{PBS}$
$V_f = \frac{2\pi}{\sqrt{3}} \left(\frac{R}{d}\right)^2$	35	100	0,111	1,134	1,917	1,919
	65	165	0,141	1,174	1,957	1,959
	180	500	0,118	1,143	1,926	1,928
	280	500	0,284	1,384	2,159	2,161
$V_f = \frac{N(\pi R^2 H)}{V}$	35	100	0,096	1,115	1,898	1,900
	65	165	0,119	1,145	1,928	1,930
	180	500	0,102	1,123	1,905	1,907
	280	500	0,246	1,324	2,103	2,105

2.4.1 Siyanat ester monomeri

Termoset olarak en yaygın kullanılan epoksi reçinelerin yerini alacağı düşünülen siyanat ester reçineler, son yıllarda üzerine fazlasıyla araştırma yapılan alternatif yalıtım, yapıştırıcı ve kaplama malzemelerden birisidir [106]. Bunun sebepleri arasında gelişmiş mekanik özellikleri, ısı, nem ve radyasyona olan dayanıklılıkları, alev geciktirici oluşları ve yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip olmaları sayılabilir. Aromatik yapıdaki siyanat ester monomerinden polisiyanat ester elde etme işlemini başlarıyla ilk gerçekleştiren Grigat ve arkadaşlarıdır [107]. Kullandıkları monomerin yapısını değiştirerek elde edilen polimerin termal ve mekanik özelliklerini modifiye etmeyi de başarmışlardır. Bu bağlamda siyanat esterler son ürünün ısısal, mekanik ve kimyasal dayanıklılığını ihtiyaca göre belirlemek mümkün olduğundan ümit vaat eden malzeme kategorisindedirler. Tüm bu avantajlarına karşın termal olarak polimerize olan ticari siyanat esterler oldukça kırılğan bir yapıdadır. Ancak, doğal olarak amorf özellikler taşıyan Bisfenol A bazlı termosetlerin nano-boyutta üretilirlerse, oligomerin



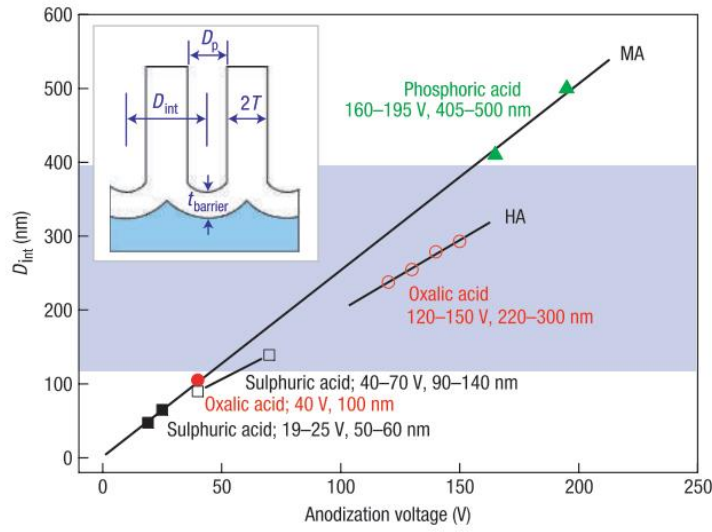
Şekil 2.3: Siyanat ester monomeri kimyasal yapısı

katı nano yüzeylerde organize olduklarını ve ısı ile sabitlendiklerinde ise kristal ağlar oluşturduklarını gözlemlenmiştir [108].

Siyanat ester reçineler oda sıcaklığında yüksek viskoz özelliğe sahip olmaları sebebiyle işlenmesi zor olan monomerlerdir. Ticari olarak üretilen siyanat ester monomerlerinden PT-30 ise oda sıcaklığında 2047 Pa.s viskoziteye sahipken, 50 °C'ye ısıtıldığında bu değer 9 Pa.s'a düşmektedir. Siyanat ester monomerlerinin ısı ile maruz kalmaları sonucunda genellikle polisianürat denilen kimyasal oluşur. Bu madde monomerin yapısında bulunan -OCN grubunun halkasal trimerizasyona uğramasıyla meydana gelir (Şekil 2.3).

2.4.2 AAO üretimi

Gözenek çapı 35, 65, 180 ve 280 nm olan, gözenek derinliği 0.25, 0.60 ve 1.00 µm arasında değişen kendiliğinden düzenli nano-gözenekli alümina şablonlar iki basamaklı alüminyum anotlama işlemi ile Osnabrück Üniversitesi'nden (Almanya) Dr. Martin Steinhart'ın grubu tarafından üretildi. Tek basamaklı üretime göre daha avantajlı olan bu yöntem sayesinde düşük mekanik kuvvet ve ısı dayanıklılık problemleri aşılabilmektedir. Aynı zamanda, üretim sürecinde tek basamaklı anotlama tekniği uygulandığında elde edilen gözenekler, ilk etapta düzensiz bir dağılım ve büyüme gösterirken, anotlama süresi uzadıkça düzenli bir hal almaya başlar. İki basamaklı anodizasyon yönteminde düzensiz oluşmuş bölge uzaklaştırıldıktan sonra yüzeyde kalan düzenli uçlardan anodizasyona devam edilir. Böylelikle kalınlık



Şekil 2.4: Fosforik, sülfürik ve okzalik asit içerisinde gerçekleştirilen AAO üretiminde çalışılan anodizasyon voltajına göre elde edilen gözenekler arası mesafenin grafik olarak gösterimi [109]

boyunca homojen ilerlemiş, birbiriyle kesişmemiş ve düzgün büyümüş nanogözenekler elde edilir.

2.4.3 AAO gözenek doldurulması

Siyanürat ester monomeri (PT-30) nano-gözenekli alümina şablonları üzerine uygulanmıştır. Nanoporların doldurulma aşamasından önce gözeneklerin boş olduğundan emin olmak için nano-gözenekli alümina şablonlar 6 saat boyunca 60 °C'de vakumlu fırında bekletilmiştir. Ardından düşük ısı yardımıyla viskozitesi düşürülmüş siyanat ester monomeri (SEM), boş AAO yüzeyine bir çubuk yardımıyla kaplanmıştır. Örnekler monomerin tüm gözeneklere tamamen ve boşluksuz dolduğundan emin olmak için 80 °C'de gece boyu bekletilmiştir. Cam yüzeyle eşleştirilecek olan monomer kaplı AAO yüzeyi, sıvı azot yardımıyla temizlenerek monomerin fazlası uzaklaştırılmıştır. Böylelikle nanoçubuklar cam yüzey üzerinde serbest şekilde elde edilebilmiştir.

2.4.4 Cam alttaş yüzey modifikasyonu

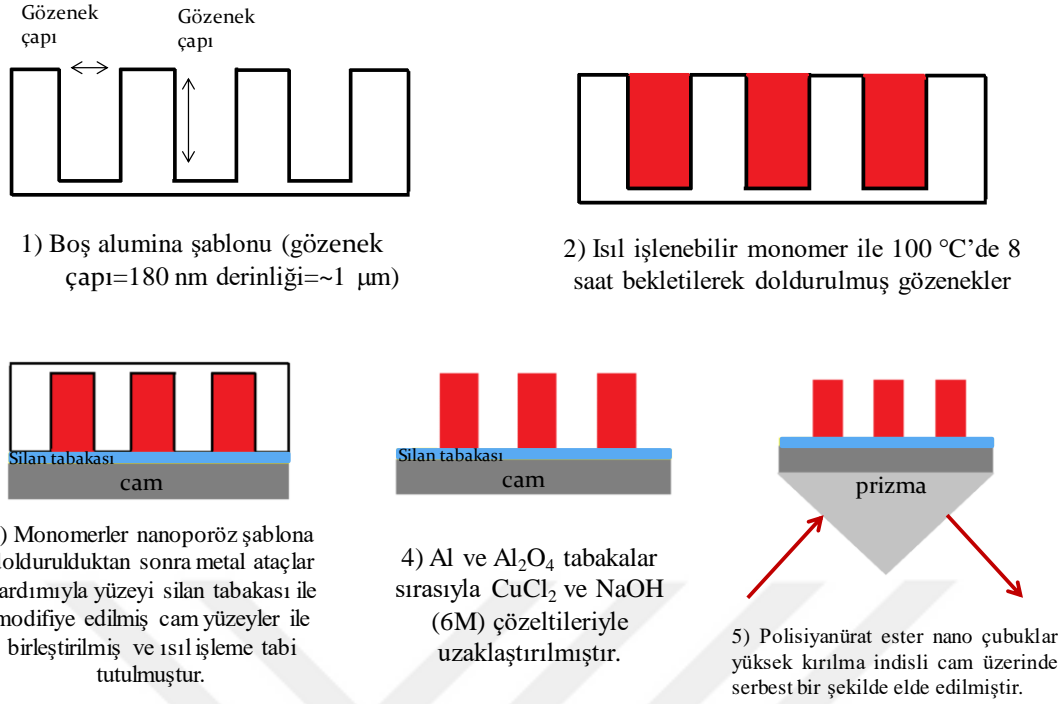
Cam yüzeyin fonksiyonlandırılması için öncelikle temizleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Yüzeyler, öncelikle cam temizleme amacıyla üretilmiş olan Hellmanex deterjanı kullanılarak temizlenmiştir. Saf su içerisinde hacimce %2 oranında deterjan içeren çözelti hazırlanmış ve camlar bu çözelti içerisinde 3 dakika

sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonikasyonun ardından saf su ile yıkanan camlar toplamda 5 kez olacak şekilde tekrar Hellmanex çözeltisi ile yıkanıp sonike edilmiştir. Deterjanlı yıkama işlemi bittikten sonra saf su ile son defa yıkanan cam yüzeyler, tüm organik kirliliklerden kurtulabilmek amacıyla bazik yıkama ile temizlenmeye devam edilmiştir. NH_3 (8 ml, %25), H_2O_2 (8 ml, %35) ve saf su (100 ml) kullanılarak hazırlanan çözelti içerisine yerleştirilen yüzeyler öncelikle 3 dakika sonikasyona tabi tutulmuş, sonrasında ise 80 °C’de 25 dakika boyunca kaynatılmıştır. Son olarak bol saf su ile yıkanan camlar kurumaya bırakılmıştır.

Siyanat ester monomerinin cam yüzey üzerinde serbest durabilmesi için yüzeyin modifiye edilmesi gerekmektedir. Bu sebeple modifikasyon için 3-aminopropil trietoksi silan (APTES) molekülleri kullanılmıştır. Etanol içerisinde hacimce %1 oranda APTES çözeltisi hazırlanmış ve 20 dakika boyunca manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Ardından yüzeyi kaplanmak istenen temizlenmiş camlar çözeltiye yerleştirilerek ~6 saat bekletilmiştir. Süre sonunda aseton içerisine yerleştirilen camlar, yüzeye fiziksel olarak tutunmuş APTES moleküllerini uzaklaştırmak amacıyla 5 dakika sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonrasında bol miktarda saf su ile yıkanan cam yüzeyler 120 °C fırında 20 dakika bekletilmiştir. APTES molekülleriyle yüzeyi modifiyeli camlar hazırlandıktan sonra bekletilmeden kullanılmıştır.

2.4.5 Siyanürat ester nanoçubukların hazırlanması

Monomerle doldurulmuş alümina şablon ve yüzeyi fonksiyonlandırılmış yüksek kırılma indisli camlar ayrı ayrı hazırlanmış ve birleştirilmiştir. Bu iki yüzey, monomerin cam yüzeye temas etmesi sağlanacak şekilde ev yapımı baskı cihazıyla sıkıştırılmıştır. Ardından N_2 gazıyla vakum fırına yerleştirilen örnekler 120 °C’de gece boyu, 180 °C’de 2 saat, 260 °C’de 5 saat ve 290 °C’de 1 saat boyunca termal çapraz bağlanma işlemine tabi tutulmuştur. Çapraz bağlanma ile polimerleşme işlemi tamamlandıktan sonra nanogözenekli şablonun dış yüzeyinde kalan kalın alüminyum tabakası 0 °C olan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi kullanılarak kimyasal korozyon yöntemi ile uzaklaştırılmıştır. Bu işlem 2-3 saat sürmektedir.



Şekil 2.5: Yüksek kırılma indisli cam üzerinde elde edilen polisiyanürat ester nanoçubukların üretimi

Son olarak, nanogözenekli ince alümina (Al₂O₃) tabakası H₃PO₄ çözeltisi (%30) ile oda sıcaklığında yaklaşık 6 saat süre içinde çözülmüştür. Daha sonra nanoçubukların üzerine \sim 50 nm kalınlığında altın tabakası yüksek fiziksel buharlaştırma yöntemi ile nanoçubuklar altın kaynağına göre 20, 30 ve 40 derece döndürülerek ve 50 nm kalınlığında biriktirilmiştir (Şekil 2.5).

2.4.6 Altın kaplı nanoçubuk üretimi

Yüksek kırılma indisli cam tabaka üzerinde yanal altın tabakası içeren (\sim 50 nm) siyanat ester nanoçubukları yüksek düzenlilikte üretilmiştir. Bu aşamda amaç nanoçubuk dizilimlerinin uç kısımlarına ve yüzeylerine kısmi olarak altın ile kaplamak, bu sayede optik sinyalleri toplayarak plasmonların rezonansını olabildiğince dar pikler verecek lokalize plazmonlar şekilde elde etmektir. Düşük yarı-doruk genişliği (fwhm) elde etmek için farklı çap ve derinliğe sahip nanoçubuklar üretilmiş ve 20, 30 ve 40° eğim açılarıyla altın kaplanmıştır. Böylelikle kısmi altın kaplamanın plazmon rezonansına etkisi yarı-doruk genişliği takip edilerek incelenmiştir.

2.5 Küresel Silika Nanoparçacık Üretimi

2.5.1 Nanoküre yapıların etkin dielektrik sabiti hesaplamaları, etkin ortam teorisi ve dalga kılavuzu performans simülasyonları

Kompozit malzemelerin özellikleri, meydana geldikleri maddelerden farklılık göstermektedir. Her bir bileşenin katkı sağladığı bu özellikleri sayısal olarak tayin etmek için Etkin Ortam Teorisi (EMT) yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanomalzemelerin üretimi ve sensör olarak kullanıldığı çalışmalar arttıkça, nanoyapı içeren karışımların dielektrik sabiti hesaplanması önem kazanmıştır. Bu problemin çözümü için farklı teoriler üretildiyse de ilk geliştirilen ve yaygın olarak kullanılan Maxwell Garnett teorisidir [110].

Etkin geçirgenliği, katılan her bir içeriğin dielektrik sabiti ve hacim oranı ile ilişkilendiren Maxwell Garnett teorisi, Lorentz moleküler polarizasyon teorisi ile benzerlik gösterir. Bu teoride ise vakum ortamında bulunan noktasal polarize olabilen atom ya da moleküllerden yola çıkılarak makro boyuttaki davranışlar incelenmektedir. Tüm sistemin dışarıdan uygulanan bir elektrik alana yerleştirildiği varsayılarak dipol moment tanımlanması yapıp çeşitli parametrelere göre çözüldüğünde Clausius-Mossotti bağıntısı elde edilir [111].

$$\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} = \frac{4\pi}{3} \sum N_j \alpha_j \quad 2.4$$

N_j sistemdeki toplam parçacık sayısını, α ise kutuplanabilirlik (polarizability). α , dielektrik sabiti ε ve yarıçapı a olan küresel bir madde için Denklem 2.5'te olduğu gibi ifade edilir.

$$\alpha = a^3 \frac{\varepsilon_{\text{katki}} - 1}{\varepsilon_{\text{katki}} + 2} \quad 2.5$$

Denklem 2.4 **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**, denklem 2.5'te yerine koyulduğunda, ifade şu şekle dönüşür:

$$\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} = \left(\frac{4\pi a^3}{3} a^3 \right) \frac{\varepsilon_{\text{katki}} - 1}{\varepsilon_{\text{katki}} + 2} \quad 2.6$$

Denklem 2.6’da parantez içerisinde belirtilen kısım küresel katkının hacim oranıdır. Eşitliğin iki tarafının da ana yapının dielektrik sabitine bölünürse Denklem 2.7 elde edilir [112].

$$\frac{\epsilon_{\text{karışım}} - \epsilon_{\text{anayapı}}}{\epsilon_{\text{karışım}} + 2\epsilon_{\text{anayapı}}} = f \frac{\epsilon_{\text{katkı}} - \epsilon_{\text{anayapı}}}{\epsilon_{\text{katkı}} + 2\epsilon_{\text{anayapı}}} \quad 2.7$$

Denklem 2.7’nin yeniden düzenlenmesi ve depolarizasyon faktörünün işleme girmesiyle geliştirilmiş Maxwell Garnett teorisi son halini alır.

$$\epsilon_{\text{karışım}} = \epsilon_{\text{anayapı}} \frac{\epsilon_{\text{anayapı}} + (f_{\text{katkı}} + f_{\text{anayapı}}P)(\epsilon_{\text{katkı}} - \epsilon_{\text{anayapı}})}{\epsilon_{\text{anayapı}} + f_{\text{anayapı}}P(\epsilon_{\text{katkı}} - \epsilon_{\text{anayapı}})} \quad 2.8$$

$f_{\text{katkı}}$, $\epsilon_{\text{katkı}}$ dielektrik sabitine sahip katkılanan maddenin, elde edilen son karışımdaki oranıdır ($f_{\text{katkı}} + f_{\text{anayapı}} = 1$). P ise polarizasyon faktör olarak isimlendirilir ve katkı maddesinin sahip olduğu şekile göre 0 ile 1 arasında bir değer alır.

Polarizasyon faktörünün katkı maddesinin geometrisine göre değişmesinin sebebi, malzeme üzerine gönderilen elektrik alanın, yalnızca yüzeye normal olması durumunda yükleri indükleyebilmesidir. Düz bir yüzeye dik olarak elektrik alan uygulandığında $P=1$, paralel olarak uygulandığında ise $P=0$ olacaktır. Üç boyutlu yapılar kartezyen koordinat sisteminde düşünüldüğünde, her yönde indüklenebilirlik toplamı tüm yüzeyin indüklenebilirliğine eşit olması gerekir.

$$P_x + P_y + P_z = 1 \quad 2.9$$

İzotropik bir şekil olarak küresel yapılar incelendiğinde, polarizasyon faktörü her yönde eşit olacağından $P=1/3$ olarak elde edilir. Fakat silindirik yapılarda durum değişmektedir. Nanomalzemelerde silindirik yapı boy-en oranı çok yüksek olduğundan silindirin dairesel uçlarının indüklenebilirliği ihmal edilebilir. Böylelikle diğer iki boyuttaki polarizasyon faktörü $1/2$ ye eşittir.

Maxwell-Garnett yaklaşımında, Denklem **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**’ta anayapı ve katkı maddesinin yerleri değiştirildiğinde aynı sonuca varılmamaktadır, bu da teorinin simetrik olmadığı anlamına gelmektedir. Ayrıca karışımdaki katkı oranı arttıkça sonuçlarda sapma gözlenmektedir. Bu problemleri aşmayı kısmen başaran

farklı yaklaşımlar geliştirilmiş olsa da MG teorisi halen geçerliliğini sürdürmektedir [113].

Silika nanoparçacıklarının 4 farklı boyutu için hesaplamalar yapılmıştır. 20, 50, 100 ve 200 nm çapındaki nanokürelerin öncelikle seçilen kübik bir birim hacimdeki (1 μm^3) oranları hesaplanmış ve Maxwell-Garnett (MG) teorisinde bu hesaplardan faydalanılmıştır.

Altın üzerine kaplanmış ve hava ortamında bulunan küresel nanoparçacıkların oluşturduğu kılavuz tabakanın dielektrik sabitini hesaplamak üzere elde edilen denklem şu şekildedir:

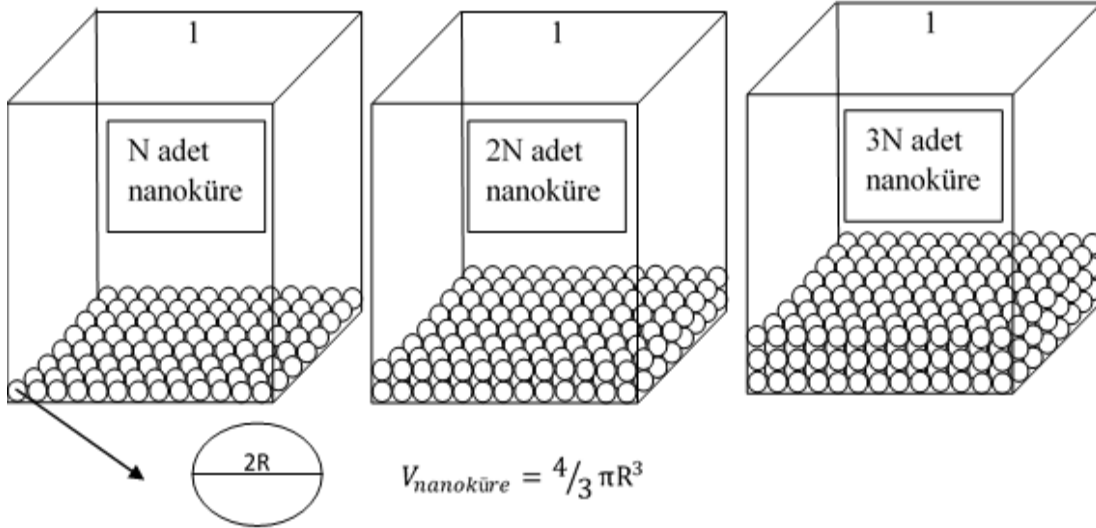
$$\epsilon_{\text{nanoküre-hava}} = \epsilon_{\text{hava}} \frac{\epsilon_{\text{hava}} + (f_{\text{nanoküre}} + f_{\text{hava}}P)(\epsilon_{\text{nanoküre}} - \epsilon_{\text{hava}})}{\epsilon_{\text{hava}} + f_{\text{hava}}P(\epsilon_{\text{nanoküre}} - \epsilon_{\text{hava}})} \quad 2.10$$

Kılavuz tabakanın içinde bulunduğu ortam değiştikçe, yukarıdaki denklemde ‘hava’ alt indisli parametreler söz konusu ortamın değerleriyle değiştirilerek, işlem hatasının önüne geçebilmek adına ‘Matlab’ programında kod yazılarak çözülmüştür. Öngörülen kılavuz tabakaların dielektrik sabitlerinin hesaplanabilmesi için, öncelikle 4 farklı boyuttaki nanokürenin boşluk hacim fraksiyonu hesaplanmıştır. Bunun için bir, iki, üç, dört ve beş tabaka halinde dizilmiş nanoparçacıkların hacminin, sabit bir hacme olan oranı alınmıştır.

$$V_f = \frac{N(4/3 \pi R^3)}{V} \quad 2.11$$

Boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplanırken, birim hacimde bulunan nanoparçacık sayısı (N) tek bir nanoparçacığın hacmiyle çarpılarak (R : nanoparçacığın yarıçapı), kapladıkları toplam hacim bulundu ve toplam hacme (V) bölünmüştür (Şekil 2.6:).

Tek tabaka nanoküre kaplanması durumunda boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplamaları ve Matlab programıyla hesaplanan hava, su ve PBS ortamlarının dielektrik sabitleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 2.6: Birim hacimde bulunan bir, iki ve üç tabaka halinde dizilmiş nanoparçacıkların şematik gösterimi

$$\begin{aligned}
 20 \text{ nm} : V_f &= \frac{2500 \left(\frac{4}{3} \pi (10 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,011 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,009 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,781 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,783 \\
 50 \text{ nm} : V_f &= \frac{400 \left(\frac{4}{3} \pi (25 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,026 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,021 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,785 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,787 \\
 100 \text{ nm} : V_f &= \frac{100 \left(\frac{4}{3} \pi (50 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,052 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,043 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,794 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,796 \\
 200 \text{ nm} : V_f &= \frac{25 \left(\frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,105 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,088 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,811 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,813
 \end{aligned}$$

İki tabaka nanoküre kaplanması durumunda boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplamaları ve Matlab programıyla hesaplanan hava, su ve PBS ortamlarının dielektrik sabitleri aşağıdaki gibidir.

$$\begin{aligned}
 20 \text{ nm} : V_f &= \frac{5000 \left(\frac{4}{3} \pi (10 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,021 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,017 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,784 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,786 \\
 50 \text{ nm} : V_f &= \frac{800 \left(\frac{4}{3} \pi (25 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,052 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,043 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,794 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,796 \\
 100 \text{ nm} : V_f &= \frac{200 \left(\frac{4}{3} \pi (50 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,105 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,088 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,811 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,813 \\
 200 \text{ nm} : V_f &= \frac{50 \left(\frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,209 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,181 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,845 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,847
 \end{aligned}$$

Üç tabaka nanoküre kaplanması durumunda boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplamaları ve Matlab programıyla hesaplanan hava, su ve PBS ortamlarının dielektrik sabitleri aşağıdaki gibidir.

$$\begin{aligned}
 20 \text{ nm} : V_f &= \frac{7500 \left(\frac{4}{3} \pi (10 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,031 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,026 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,787 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,789 \\
 50 \text{ nm} : V_f &= \frac{1200 \left(\frac{4}{3} \pi (25 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,079 & \epsilon_{\text{hava}} &= 1,066 & \epsilon_{\text{su}} &= 1,803 & \epsilon_{\text{PBS}} &= 1,804
 \end{aligned}$$

$$100 \text{ nm} : V_f = \frac{300 \left(\frac{4}{3} \pi (50 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,157 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,136 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,828 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,830$$

$$200 \text{ nm} : V_f = \frac{75 \left(\frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,314 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,280 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,880 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,882$$

Dört tabaka nanoküre kaplanması durumunda boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplamaları ve Matlab programıyla hesaplanan hava, su ve PBS ortamlarının dielektrik sabitleri aşağıdaki gibidir.

$$20 \text{ nm} : V_f = \frac{10000 \left(\frac{4}{3} \pi (10 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,042 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,035 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,791 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,793$$

$$50 \text{ nm} : V_f = \frac{1600 \left(\frac{4}{3} \pi (25 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,105 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,088 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,811 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,813$$

$$100 \text{ nm} : V_f = \frac{400 \left(\frac{4}{3} \pi (50 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,209 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,181 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,845 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,847$$

$$200 \text{ nm} : V_f = \frac{100 \left(\frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,419 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,386 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,916 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,918$$

Beş tabaka nanoküre kaplanması durumunda boşluk hacim fraksiyonu (V_f) hesaplamaları ve Matlab programıyla hesaplanan hava, su ve PBS ortamlarının dielektrik sabitleri aşağıdaki gibidir.

$$20 \text{ nm} : V_f = \frac{12500 \left(\frac{4}{3} \pi (10 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,052 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,043 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,794 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,796$$

$$50 \text{ nm} : V_f = \frac{2000 \left(\frac{4}{3} \pi (25 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,131 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,111 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,820 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,822$$

$$100 \text{ nm} : V_f = \frac{500 \left(\frac{4}{3} \pi (50 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,262 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,230 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,863 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,865$$

$$200 \text{ nm} : V_f = \frac{125 \left(\frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-3} \mu\text{m})^3 \right)}{1 \mu\text{m}^3} = 0,524 \quad \epsilon_{\text{hava}} = 1,498 \quad \epsilon_{\text{su}} = 1,951 \quad \epsilon_{\text{PBS}} = 1,953$$

Bulunan boşluk hacim fraksiyonları kullanılarak, ortama göre modifiye edilmiş Denklem **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.** yeniden düzenlenmesi ve depolarizasyon faktörünün işleme girmesiyle geliştirilmiş Maxwell Garnett teorisi son halini alır.

2.12

$$\epsilon_{\text{karışım}} = \epsilon_{\text{anayapı}} \frac{\epsilon_{\text{anayapı}} + (f_{\text{katkı}} + f_{\text{anayapı}} P)(\epsilon_{\text{katkı}} - \epsilon_{\text{anayapı}})}{\epsilon_{\text{anayapı}} + f_{\text{anayapı}} P(\epsilon_{\text{katkı}} - \epsilon_{\text{anayapı}})}$$

Elde edilen boşluk hacim fraksiyonları ve 3 farklı ortamın dielektrik sabitleri aşağıdaki çizelgede listelenmiştir.

Çizelge 2: Tek tabaka olarak kaplanmış farklı boyuttaki nanoparçacıkların boşluk hacim fraksiyonları ile hava, su ve PBS ortamındaki dielektrik sabiti değerleri ($\epsilon_{\text{karışım}}^i$, i: ortam)

Tabaka Sayısı	Parçacık Boyutu	Boşluk Hacim Fraksiyonu	$\epsilon_{\text{karışım}}^{\text{hava}}$	$\epsilon_{\text{karışım}}^{\text{su}}$	$\epsilon_{\text{karışım}}^{\text{PBS}}$
Tek tabaka	20	0,011	1,009	1,781	1,783
	50	0,026	1,021	1,785	1,787
	100	0,052	1,043	1,794	1,796
	200	0,105	1,088	1,811	1,813
İki tabaka	20	0,021	1,017	1,784	1,786
	50	0,052	1,043	1,794	1,796
	100	0,105	1,088	1,811	1,813
	200	0,209	1,181	1,845	1,847
Üç tabaka	20	0,031	1,026	1,787	1,789
	50	0,079	1,066	1,803	1,804
	100	0,157	1,136	1,828	1,830
	200	0,314	1,280	1,880	1,882
Dört tabaka	20	0,042	1,035	1,791	1,793
	50	0,105	1,088	1,811	1,813
	100	0,209	1,181	1,845	1,847
	200	0,419	1,386	1,916	1,918
Beş tabaka	20	0,052	1,043	1,794	1,796
	50	0,131	1,111	1,820	1,822
	100	0,262	1,230	1,863	1,865
	200	0,524	1,498	1,951	1,953

2.5.2 Silika nanoparçacık sentezi

~100 nm boyutunda silika nanoparçacıkları elde edebilmek için oda sıcaklığında 10 dakika boyunca sonike edilmiş 114 mL etanol üzerine TEOS (3,8 mL, 17 mmol) eklenmiştir. 20 dakika sonra ortama amonyum hidroksit çözeltisi (%28, 5,7 mL) damla damla eklenerek ilave edilmiş ve beyaz bulanık bir süspansiyon elde edilene kadar yaklaşık 60 dakika daha sonikasyona devam edilmiştir. Süzme yöntemiyle ayrılan parçacıklar metanol ile 3 kez sanrifüj edilmiştir. Yıkanmış silika nanoparçacıklarına etanolde çözülmüş APTES (2,1 mL, 9,4 mmol) eklenmiş ve oda sıcaklığında gece boyunca bekletilmiştir. Elde edilen nanoparçacıklar 4000 rpm de 20 dakika boyunca santriüjlenerek ayrılmış ve üç kere etanol ile yıkanmıştır.

2.5.3 Silika nanoparçacık yüzeyinin başlatıcı kimyasal ile modifikasyonu

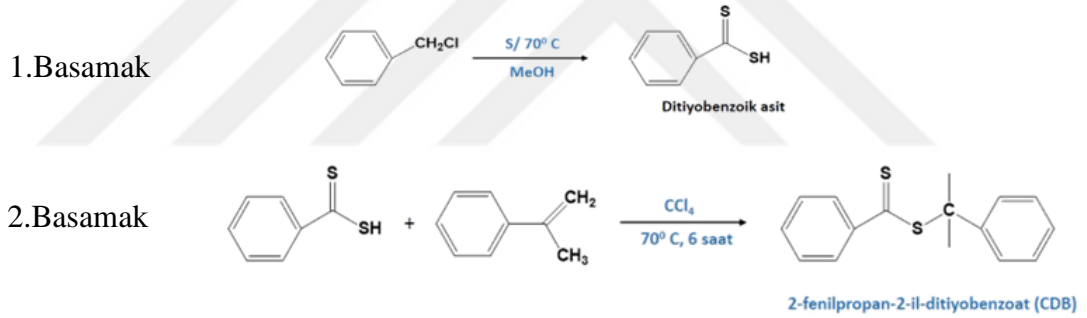
Kuru diklorometan (20 mL) içinde azo-başlatıcı (0,6 g, 2,8 mmol) (4,4'-Azobis (4-siyanopentanoil klorür) çözüldükten sonra üzerine azot gazı altında 260 μL kuru

triethylamin eklenmiştir. Önceden degaz işlemine tabi tutulmuş APTES ile fonksiyonlandırılmış silika nanoparçacıkları (0,6 g), yine azot gazı altında ortama ilave edilmiş ve reaksiyon 2,5 saat boyunca oda sıcaklığında devam etmiştir. İki kere diklorometan (30 mL) ardından 2 kere de metanol (30 mL) ile yıkanan parçacıklar, gece boyu kurutulmuştur.

4,4'-azobis (4-sianopentanoil klorür) ile modifiye edilmiş silika nanoküreleri Geçirimli Elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Analizden önce nanoparçacıklar etanol içinde çözülerek karbon kaplı bakır ağ üzerine iki-üç damla kadar damlatılmıştır. Elektron hızlandırma voltajı 200 kV civarında tutularak FEI Tecnai G2 F20 cihazı ile ölçüm alınmıştır.

2.5.4 RAFT ajanı (2-Fenilprop 2-il Ditiyobenzoat) sentezi

RAFT polimerizasyonunda kullanılacak olan 2-fenilpropan-2-il-ditiyobenzoat (CDB) RAFT ajanı sentez basamakları Şekil 2.7: 'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.7: RAFT ajanı sentez basamakları

RAFT ajanı sentez reaksiyonunda tepkenlerinden biri olan ditiyobenzoik asiti elde etmek için, metanol içindeki derişimi en az %50 olacak şekilde, yani yaklaşık 0,50 mol sodyum metoksit ve 0,50 mol elementel kükürt, 160 mL susuz metanol içinde oda sıcaklığında çözülmüştür. Ardından ortama 0,25 mol benzil klorür 60 dakika boyunca eklenmiş ve karışımın sıcaklığı 70°C' ye çıkarılarak manyetik karıştırıcıda 18 saat bekletilmiştir. Süre sonunda buz banyosu yardımıyla 5 °C' ye soğutulan karışım, NaCl tuzu süzöldükten sonra çözücüsü uçurulmuştur. Kalan kısma 100 mL saf su ilave edilip, 3 kez dietileter (Sigma Aldrich) ile yıkanmış, sonrasında dietileter ve 1,0 M HCl (250 mL) ilave edilerek ditiyobenzoik asit (DTBA) eter fazına geçirilmiştir. Ardından eter fazı 3 kez su ile yıkanıp 200 mL saf su ve 250 mL 1,0 M NaOH (Sigma Aldrich) ilave edilmiş, sonra sodyum benzoat tuzu su fazında elde edilmiştir. Aynı faz

dietileter ile 3 kez yıkandıktan sonra dietileter ve 1,0 M HCl (250 mL) ilave edilip asit forma dönen ditiyobenzoik asit, eter fazına ekstrakte edilerek 3 kez saf su ile yıkanmıştır. Karışım magnezyum sülfatla kurutulup süzülükten sonra çözücüsü uçurularak ürün yağ halinde elde edilmiştir [114].

Elde edilen ditiyobenzoik asitten 11,1 g kullanılarak hazırlanan reaksiyon balonuna, 10,4 g α -metilstiren ve 40 mL dikloroetan ilave edilmiş ve 70 °C sıcaklıkta karıştırılmıştır. 24 saat sonunda çözücüsü uzaklaştırılan ürün, silika jel (Merck) ile doldurulmuş kolondan hekzan yarılımıyla geçirilmiş ve mor renkli bir yağ olarak elde edilmiştir [115].

2-fenilpropan-2-il-ditiyobenzoat (CDB) sentezi basamaklarının sonucunda elde edilen bütün kimyasal maddelerin yapı analizleri Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. FT-IR spektrumlarının elde edilmesinde Nicolet 6700 FT-IR Spektrometre kullanılmıştır. ¹H-NMR spektrumları, dötöro kloroform (CDCl₃) içerisinde çözünerek, Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresi ile ölçülmüştür.

2.5.5 Moleküler baskılama işlemi için şablon molekülü (L-fenilalanin anilid) sentezi

L-Boc-fenilalanine anilid molekülü (L-BFA) L-Boc-Fenilalanine ve anilin moleküllerinin kuru dimetil formamid içerisinde, N, N-disikloheksilkarbodimid (DCC) ve 1-hidroksibenzotriazol (HOBt) ajanları kullanılarak kondenzasyonundan elde edilmiştir. Sentezden önce anilin, safsızlıklarından kurtulmak ve nemi uzaklaştırmak için distile edilmiştir. Moleküler elek yardımıyla kurutulmuş DMF içerisine, 0,05 mol taze distile anilin, 0,06 mol L-BOC-fenilanilin, 0,06 mol HOBt ve 0,08 mol, 150 ml DCC eklenerek homojen bir karışım elde edilmiştir. 3 saat süren karıştırma işleminin ardından karışım, çözünmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması için süzümüştür. Geriye kalan çözelti tekrardan nemi uzaklaştırmak için MgSO₄ ile 1 kez kurutulmuştur. Geriye kalan katı kısım diklorometan içerisinde çözünerek sırasıyla 300 ml 1M NaHCO₃, 0.5M HCl ve soğuk Milli-Q ile yıkandı. DCM in 1/3 kalacak şekilde döner buharlaştırıcıda bekletilen karışım kloroformda çözülerek 2,5:1 hekzan: etilasetat çözücülerıyla silika jel kolondan geçirilmiştir. Ürün beyaz kristal şeklinde

elde edilmiştir. Kalan çözücü kalıntılarını ortamdan uzaklaştırmak için beyaz kristal molekülleri 1 gece vakum altında (1-2 mbar) bekletilmiştir [116].

Sentezlenmiş olan L-BOC-fenilalanine anilid molekülünün yapısındaki koruyucu grubu (BOC) uzaklaştırma için bir önceki basamakta elde edilen ürünün tamamı 30 mL DCM içinde çözüldükten sonra buz banyosuna yerleştirilmiştir ve 30 mL trifloroasetikasit damla damla bu çözeltiliye eklenmiştir. İki saat boyunca karıştırılan çözeltilinin çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra kalan katı kısım yaklaşık olarak 100 mL tolüende çözülmüştür. Organik faz iki defa 1M HCl çözeltilisiyle yıkandıktan sonra, su fazları birleştirilmiştir ve 5M NaOH çözeltisi yardımıyla pH değeri baz aralığına (8-10) getirilmiştir. Bazik çözeltili DCM ile yıkanarak ürün tekrar organik faza geçirilmiş ve MgSO₄ yardımıyla kurutulmuştur. Çözücüsü uzaklaştırılan L-fenilalanine anilid, klorofom/hekzan yardımıyla kristallendirilmiştir [117].

L-fenilalanine anilid sentezi basamaklarının sonucunda elde edilen bütün kimyasal maddelerin yapı analizleri Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. ¹H-NMR spektrumları, dötöro kloroform (CDCl₃) içerisinde çözünerek, Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresi ile ölçülmüştür.

2.5.6 Silika nanoparçacık yüzeyinde raft polimerizasyonunun gerçekleştirilmesi ve moleküler baskılamanın uygulanması

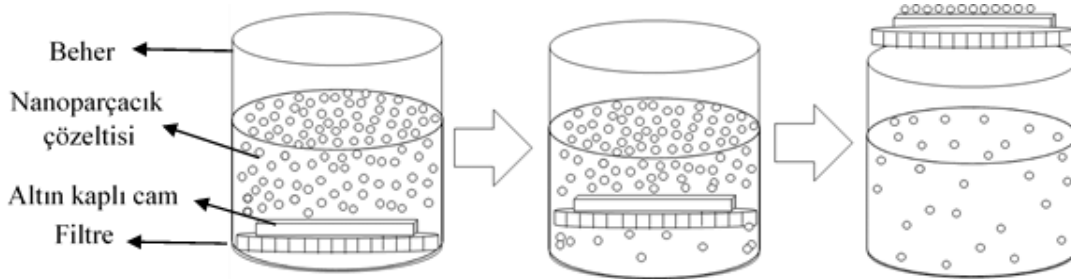
1 g başlatıcı kaplı silika nanoküreleri varlığında, şablon molekülü (0,240 g, 1 mmol), RAFT ajanı (0,20 g, 0,74 mmol), metakrilik asit (0,68 ml, 8 mmol) ve etilen glikol dimetakrilat (7,6 ml, 40 mmol) monomerlerini içeren 11 ml kuru toluen çözeltisi hazırlanarak ve UV ışığı (360 nm) altında polimerizasyon gerçekleştirilmiştir. 2 saat süren polimerleşme reaksiyonunun ardından ürün ~50 nm kalınlığında altın kaplı yüksek kırılma indisli cam yüzey üzerine tutturulmuştur.

Kopolimer kaplı silika nanoparçacıklarının altın yüzeyine sabitlenmesi için ilk olarak daldırmalı kaplama işlemi uygulanmıştır. Altın yüzey 1 g/L derişiminde parçacık içeren 15 dakika boyunca sonike edilmiş metanol çözeltisinin içerisine yerleştirildikten sonra 6 saat bekletilmiştir. Ardından metanol ile yıkanan altın yüzeyi 50 °C'de ısıtılma tabi tutulmuştur. Bu işlemler daldırmalı kaplama basamağından itibaren, altın yüzeyin tamamı nanoparçacıklarla kaplanana kadar tekrar edilmiştir.

Altın yüzeyinde polimer kaplı silika nanokürelerinin kimyasal analizi X-Ray Fotoelektron Spektroskopisi ile incelenmiştir. Markası Thermo Scientific K-Alpha olan cihazda Mg K α (1253,6 eV) X-ray kaynağı 300 W iken çalışılmıştır. Spektrumlar yüzeyin normaline göre 60° ayrılma açısıyla kaydedilmiştir. Altın yüzeyine kaplanmış silika nanoparçacıklarının varlığı Atomik Kuvvet Mikroskobu ile gözlenmiş ve üzeri Au tabakasıyla kaplı olan tip kullanılarak (Si tip, k=40N/mm) PSIA XE-100 cihazı ile tarama yapılmıştır. Nanoparçacıkları saran kopolimer kalınlığı ise Geçirimli Elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Analizden önce nanoparçacıklar etanol içinde çözülerek karbon kaplı bakır ağ üzerine iki-üç damla kadar damlatılmıştır. Elektron hızlandırma voltajı 200 kV civarında tutularak FEI Tecnai G2 F20 cihazı ile ölçüm alınmıştır.

2.5.7 Moleküler baskılanmış silika nanoparçacıkların altın yüzeyine sabitlenmesi

Filtre yüzeyinde kaplama işlemi (Şekil 2.8) ise küresel nanoparçacıkları altın yüzeyine tutturmak için uygulanan bir diğer yöntemdir. 1, 5, 7,5 ve 10 mg/ml derişimine sahip polimer kaplı küresel nanoparçacıklar metanol içerisinde 50 ml lik bir beherde çözülmüş ve 1 saatlik sonikasyona tabi tutulmuştur. Kullanılan beherin çapı ile aynı boyutlara sahip 240 μ m gözenek çaplı filtre, beherin içerisine yerleştirilmiştir. Altın kaplı olan yüksek kırılma indisli cam, filtrenin üzerine ortalanarak koyulduktan sonra, filtre yardımıyla yukarıya doğru hareket ettirilerek homojen çözeltinin içerisinden geçirilmiştir. Kaplamanın ardından metanol ile yıkanan örnekler, 1 saat boyunca 50°C’de ısıtılma işlemine tabi tutulmuştur. Yüzey kaplanma miktarı optik mikroskop yardımıyla takip edilmiş ve işlem yüzeyin tamamı kaplanana kadar tekrar edilmiştir.



Şekil 2.8: Filtre yüzeyinde kaplama işleminin şematik gösterimi

2.6 Mezogözenekli Silika Parçacık Sentezi (MS)

CTAB (4g), 1,1 M NH₄OH (1000 ml) çözeltisi içerisinde çözüldü. TEOS (16 ml, 71,65 mmol) hızlı karıştırma sırasında ortama eklendikten 10 dakika sonra çökme gerçekleşmeye başladı ve reaksiyona oda sıcaklığında 24 saat devam edildi. Parçacıklar filtre edilip 4000 rpm’de 20 dakika santrifüjle yıkandıktan sonra gece boyu 50°C sıcaklıkta kurutuldu.

2.6.1 Silika yüzeyinin APTES ile fonksiyonlandırılması (MS-APTES)

Üretilen MS 0,1 mol APTES içeren 250 ml kuru tolüen içerisinde 16 saat karıştırıldı. Ürün filtrelendikten sonra 4000 rpm’de 20 dakika santrifüjle yıkandı ve 110°C sıcaklıkta 18 saat kurutuldu.

2.6.2 Silika yüzeyinin gluteraldehit ile fonksiyonlandırılması (MS-GA)

%5 gluteraldehit içeren sulu çözeltiye (100 ml) MS-aptès parçacıkları (5 g) eklendi ve 18 saat karıştırıldı. Deiyonize su ve aseton ile 4000 rpm’de 20 dakika santrifüjle yıkandı ve 100°C sıcaklıkta 2 saat kurutuldu.

2.6.3 Silika yüzeyinin dallanmış polietilenimin ile fonksiyonlandırılması (MS-PEI)

PEI (10 mg/ml) içeren fosfat tampon çözeltisi (500 ml, pH=7) içerisine 3 g MS-GA eklendi ve oda sıcaklığında 16 saat karıştırıldı. Deiyonize su ile 4000 rpm’de 20 dakika santrifüjle yıkandı ve 40°C sıcaklıkta gece boyu kurutuldu.

2.6.4 Adsorpsiyon çalışmaları

Fonksiyonlandırılmış silika nanoparçacıkların adsorpsiyon kapasiteleri farklı miktarlarda adsorbent kullanılarak test edildi. 5-20 mg nanoparçacık 15 ppm derişiminde boya içeren 10 ml çözelti içerisinde 400 rpm’de optimize edilen pH ve temas süresi ile (ARS: pH = 6, t = 15 dakika; XO: pH = 4, t = 2 dakika) karıştırıldı. Tutunma sonrasında boya derişimi, santrifüjlemenin ardından üstte kalan çözeltiden kalibrasyon eğrisi (ARS: λ_{\max} =470 nm; XO: λ_{\max} =436 nm) yardımıyla belirlenmiştir. Denge durumunda adsorplanan boya miktarı aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

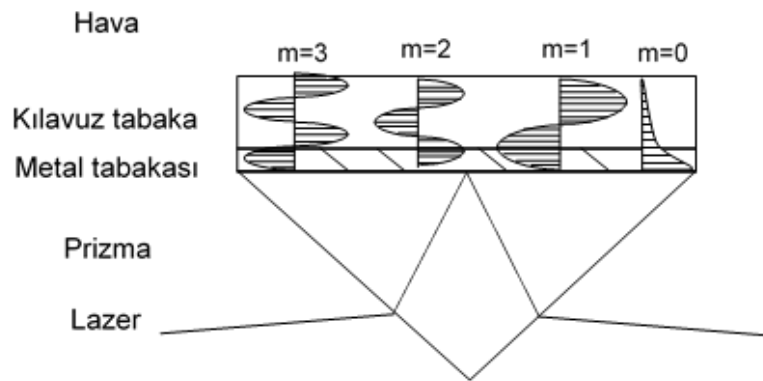
$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{W} \quad 2.13$$

q_e dengede adsorbanın tutma kapasitesi (mg/g), C_0 ve C_e (mg/g) çözünenin başlangıç ve denge derişimi, V (L) çözelti hacmi ve W (g) adsorban miktarını belirtmektedir.

2.7 Klasik YPR Cihazı Ölçümleri

Belirli bir kalınlık ve kırılma indisine sahip, metal tabaka içeren sistemlerde optik dalga kılavuzu modları görülür. Kılavuz özelliği gösteren tabakanın kırılma indisinin, tabakayı saran ortamın kırılma indisinden büyük olması gerekmektedir. Optik dalga kılavuzu özelliği gösterecek tabaka, metal üzerine yerleştirilir. Kretschmann yapılandırılması kullanıldığında (Şekil 2.9) belirli dalgaboyundaki ışık öncelikle prizmadan geçer ve metal tabakaya ulaştıktan sonra, belli geliş açılarında yansıma göstermez ve dalga kılavuzu tabakada sınırlandırılarak yayılmaya devam eder. Işık, dalga kılavuzu tabakada manyetik bileşeni ile ilerliyorsa buna p-polarizasyon (TM), elektrik bileşeni ile ilerliyorsa s-polarizasyon (TE) adı verilir [97].

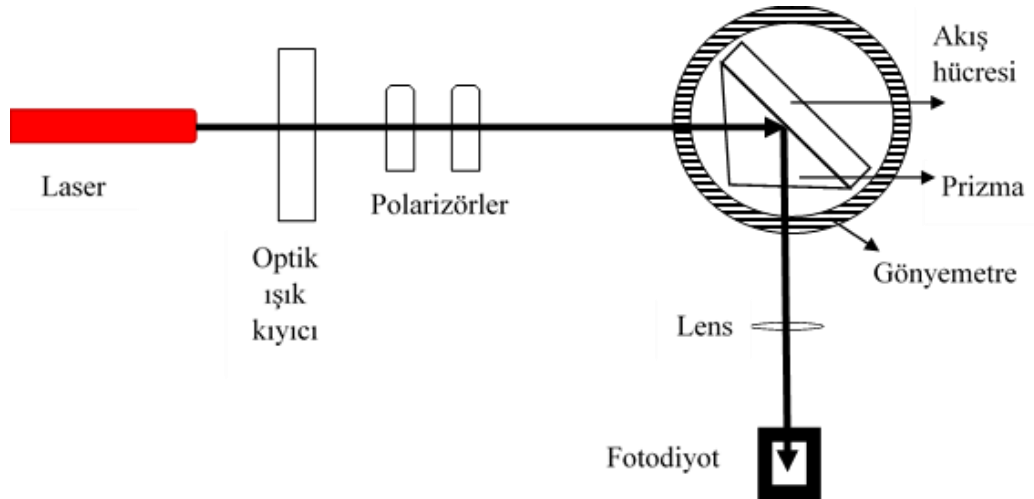
ODK spektroskopisinde kaynaktan tek dalgaboyuna sahip ışık çıkar ve öncelikle optik ışık kırıyıcıdan geçerek polarizörler üzerinden prizmaya yönlendirilir. Optik dalga kılavuzlarını gözlemleyebilmek için prizmanın alt tabanı metal kaplı olmalıdır. Kullanım kolaylığı sağlması açısından, metal ince bir camın tek yüzeyine kaplanır ve kaplanmamış yüzey ile prizma indeks eşitleyici sıvılar kullanılarak birleştirilir. Böylelikle aynı prizma farklı metal-kılavuz tabakalarıyla kullanılabilir. Akış hücresiyle birleştirilmiş metal-kılavuz tabakasından yansıyan ışık fotodiyot detektöre düşürülür. Tüm sistem bir bilgisayara bağlanarak takip edilir [118].



Şekil 2.9: Kretschmann yapılandırılması ve optik dalga kılavuz modları

Şekil 2.10'da gösterilen düzenekte geliş açısı-yansıma taramaları elde edilebilir. Bu eğrilerin 3 farklı karakteristik noktaları bulunmaktadır. Toplam iç yansımanın uç noktası bunlardan ilkidir. Bu noktanın gözlendiği açı (θ_c) kullanılan prizmanın ve kılavuz tabakanın içinde bulunduğu ortamın kırılma indislerine bağlıdır. Yani aynı ortamda ve aynı prizma ile alınan ölçümlerde, kılavuz tabaka değişse bile, bu ucun gözlendiği açı değişmeyecektir [119]. Dolayısıyla üzerinde çalışılan sistemin sonuçları çapraz kontrol edilmek istendiğinde, bu değer kullanılabilir. Kritik bir rol oynadığından dolayı, sonuç olarak sunulan diyagramlarda belirtilmesi gerekir.

Rezonans açısı (θ_r) ise diğer bir önemli noktadır. Aslında belirlemek istediğimiz olan rezonans açısı, yüzey plazmonların gelen ışığın enerjisini en fazla miktarda absorbladığı açıdır. Bu sebeple bu noktada yansıma sifıra kadar iner. Fakat her sistemde tam olarak sıfır değerini vermeyebilir, metal tabakasının kalınlığı arttıkça yansıma miktarı da artış gösterir. Herhangi bir kılavuz tabaka olmadan ölçüm alındığında bu açı, kullanılan metal, prizma ve ortamın optik özelliklerine göre bir değer verir. Daha sonra kaplanan film ile yapılan analizlerin doğru yönlendirilebilmesi ve yorumlanabilmesi için boş sistem ile ölçüm alınarak, rezonans açılarının takip edilmesi önemlidir [120].

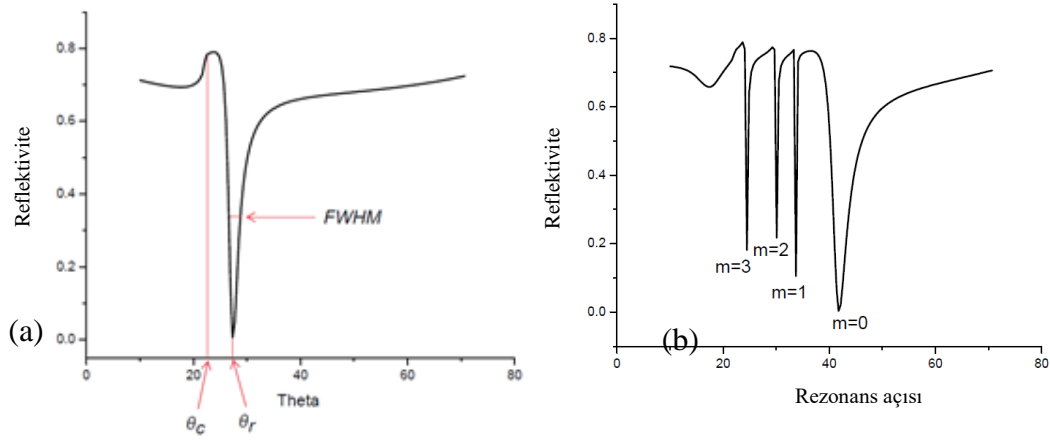


Şekil 2.10: Optik Dalga Kılavuzu Spektroskopisi cihazının şematik gösterimi

Son olarak yarı-doruk genişliği (fwhm) de sistem hakkında bilgi veren bir parametredir. Rezonans pikinin yarı-doruk genişliği sistemde kullanılan metal tabakasına bağlıdır. Metal tabakasının dielektrik sabitinin sanal bileşeni ne kadar büyük bir değer ise, rezonans piki de o kadar geniş elde edilir. Bu sebeple altın ve

gümüş tabakalarının yarı-doruk genişlikleri karşılaştırıldığında, gümüşün daha dar pikler oluşturduğu gözlenir. Fakat gümüş metalinin oksitlenebilirliği yüksek olduğundan, kararlı bir yapıya sahip olan altının çalışmalarda daha çok tercih edildiği görülür [121].

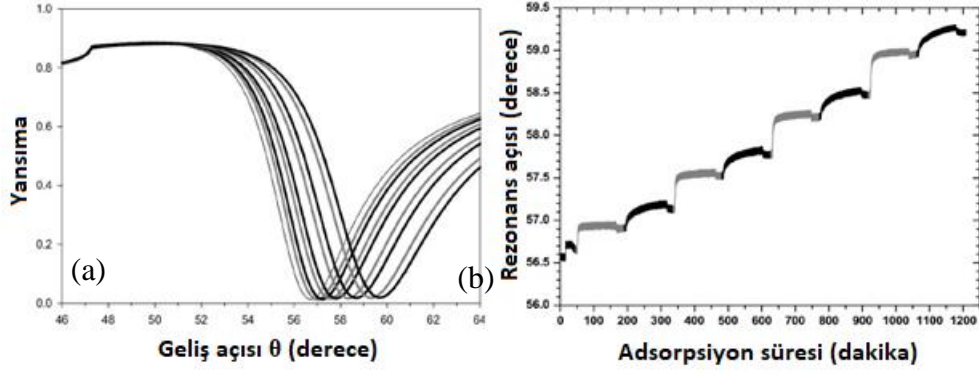
Şekil 2.12’de gösterilen örnek eğriler ‘durgun (statik)’ analiz sonucu elde edilir. Durgun analiz, geliş açısı-yansıma eğrisinin akış hücresi içerisinde bulunan kılavuz tabaka üzerinden bir çözücü ya da çözelti geçirilirken elde edilir. Biyosensör uygulamalarında, sensör tabaka üzerine hedef molekülün tutunmasını takip etmek amacıyla ya da bir yüzeyi belirli bir molekül ile tamamen kaplamak gerekiyorsa işlemi



Şekil 2.11: Yüzey Plazmon Rezonans cihazından elde edilen (a) geliş açısı-yansıma eğrisi örneği ile kritik noktaları ve (b) dalga kılavuzu modları

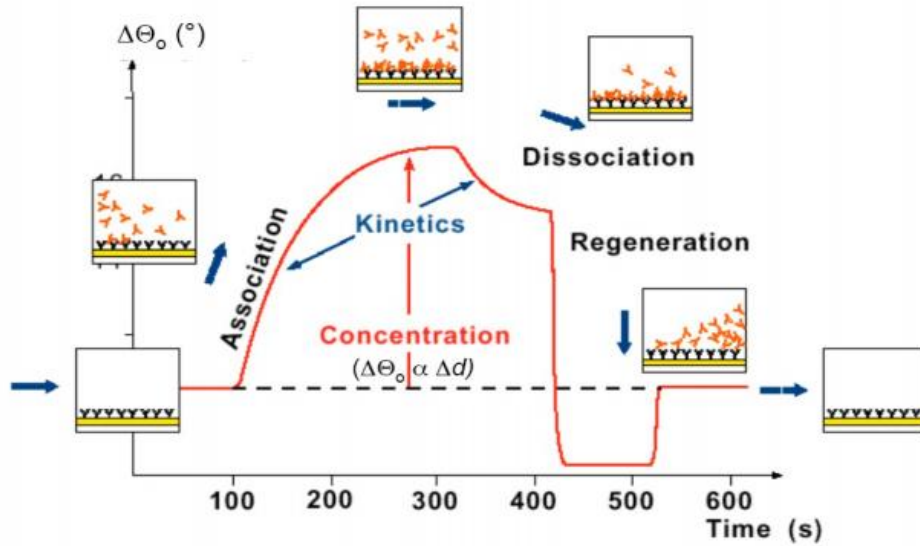
gözlemlemek için bu mod uygulanır. Tutunma gerçekleştiğinde rezonans açısında yüksek değerlere kayma görünür. Bir diğer yöntem ise ‘dinamik’ analizdir. Bu yöntemde ise yine akış hücresi içerisinde bulunan kılavuz tabaka üzerinden hedef madde ya da maddeler çözelti içinde geçirilirken adsorpsiyon süresi-rezonans açısı eğrisi elde edilir. Her absorplanan tabaka sonrasında rezonans açısı arttığından, yükselme eğiliminde olup tabaka hedef moleküle doyduğunda sabitlenen bir trend izler [122].

Bağlanma ve kinetiği takip edilebildiği gibi, moleküler etkileşimler de etiketleme yapılmadan ve gerçek zamanlı olarak takip edilebilir. Bunun için yine kinetik mod uygulanır. Algılayıcı yüzey akış hücresine yerleştirilir, hedef molekülünü içeren çözelti akış hücresinden bir pompa yardımıyla sürekli olarak geçirilir. İlk olarak yüzeye adsorplanma (birleşme basamağı) gerçekleşir ve rezonans açısı artar.



Şekil 2.12: Yüzey plazmon rezonans cihazı ile alınan (a) durgun (b) kinetik ölçümler [122]

Yüzeyde aktif uç sayısı azaldıkça rezonans açısının artması da yavaşlar. Açıdaki değişimin durması, aktif uçların tamamen etkileşim durumunda olduğunu gösterir. Ulaşılan bu yatışkın halin ardından akış hücresi herhangi bir çözücü ya tampon çözelti ile yıkanırsa aktif bölgelere tutunan moleküller, yüzeyden ayrılmaya başlar, yani desorpsiyon (ayrılma basamağı, dissociation) oluşur. Tekrar hedef molekül içeren çözelti ortama gönderilirse adsorpsiyon basamağı yinelenir, boş çözücü durumunda ise desorpsiyon yinelenir. Bu şekilde bağlanma seçiciliği ve kinetiği güvenilir bir şekilde ölçülebilir. Bu yöntemin uygulanmasıyla elde edilen örnek eğri Şekil 2.13'te gösterilmiştir [113,118].



Şekil 2.13: Moleküler etkileşim takibinde elde edilen tarama eğrisi ve alanları [122]

2.8 Nanoeye YPR Cihazı Ölçümleri

2.8.1 Nanoeye YPR cihazı için performans katsayısı ölçümü

Altın tabakası biriktirilmiş BK7 cam üzerinden sırasıyla saf su (n=1,333), etanol (n=1,361) ve izopropanol (n=1,378) çözücüleri 5'er dakikalık süreler boyunca geçirilmiş ve her çözücünün geçirildiği süre sonunda YPR eğrileri kaydedilmiştir. Bütün çözeltilerin akış hücresinden geçirildiği süre boyunca kinetik ölçüm de yapılmıştır.

2.8.2 Sistamin Kaplı Altın Yüzeylerin Üretimi

Yüzeyler bir gece boyunca 25 mM derişiminde etanol içinde hazırlanan sistamin çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Süre sonunda tekrar etanol ile yıkanan yüzeyler azot altında kurutulmuş ve polimerizasyon işlemi için bekletilmeden kullanılmıştır.

2.8.3 Polimer film kaplı yüzeylerin optimizasyonu ve üretimi

I. Optimizasyon Çalışmaları:

22x22x,13-,16 boyutundaki BK7 camından üretilen lamellere ince film kopolimer kaplanması termal polimerizasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Kopolimerizasyonu gerçekleştirebilmek için seçilen monomerler, RAFT polimerizasyonunda kullanılan monomerler ile aynı tutulmuş fakat termal polimerizasyon gerçekleştirileceği için 60°'de aktive olan azobisisobütironitril (AIBN) başlatıcısı kullanılmıştır. AIBN, metakrilik asit (fonksiyonel monomer-MAA) ve etilenglikol dimetakrilat (çapraz bağlayıcı monomer-EDMA) kimyasallarının oranını optimize edebilmek için etki faktörü yüksek olan dergilerden seçilen iki adet farklı makalenin yöntemleri izlenmiştir.

Ye ve ark. (A) en yüksek verimle kopolimer sentezini MAA: EDMA: AIBN oranını 1:0,5:0,1 olarak belirlediklerinde elde etmişlerdir [123]. Bu sebeple aynı oranlar ve hazırlama yöntemi kullanılarak üretim gerçekleştirilmiştir. Monomer çözeltisi hazırlanırken öncelikle 20 ml kloroform (CHCl₃) içinde 0,2 mmol MAA oda sıcaklığında çözülmüş ve 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 0,1 mmol EDMA ve 0,02 mmol AIBN çözeltinin üzerine eklendikten sonra 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda tekrar bekletilmiştir. Ardından çözeltilerden 5 dakika

boyunca azot gazı geçirilmiştir. Yüzeyi 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) molekülleriyle fonksiyonlandırılmış BK7 lameller iki farklı yöntem kullanılarak polimerizasyon çözeltisi ile kaplanmıştır. Öncelikle döndürerek kaplama (SC) yöntemi uygulanmıştır. Yüzeyinin yarısı ticari oje yardımıyla maskelenen lameller 600 rpm hızda döndürülürken üzerlerine 200 µL polimerizasyon çözeltisi eklenmiştir. Döndürme işlemi 300, 180, 60, 40 ve 20 saniye boyunca sürdürülmüştür. Aynı prosedür 20 ml CHCl₃ içinde 0,1 mmol MAA, 0,05 mmol EDMA ve 0,01 mmol AIBN çözülerek tekrar edilmiştir. Polimerizasyon çözeltisiyle kaplanmış lameller vakum ortamında 60°C'de 24 saat boyunca polimerizasyona tabi tutulmuştur. Maskelenmiş bölgenin temizlenmesinin ardından elde edilen film kalınlığını ölçmek için optik profilometre kullanılmıştır. Ölçüm 640*480 72 Hz çözünürlük ile gerçekleştirilmiştir. Zygo Profilometre marka cihazda beyaz ışık (lazer) kullanılarak ölçüm alınmıştır.

İkinci olarak daldırarak kaplama (DC) işlemi uygulanmıştır. Üst yüzeyinin yarısı ve alt yüzeyinin tamamı ticari oje ile maskelenen lameller polimerizasyon çözeltilerine daldırılmıştır. Lameller 1, 2 ve 3 dakika boyunca çözeltide bekletilmiştir. Aynı prosedür 20 ml CHCl₃ içinde 0,1 mmol MAA, 0,05 mmol EDMA ve 0,01 mmol AIBN çözülerek tekrar edilmiştir. Polimerizasyon çözeltisiyle kaplanmış lameller, diğer kaplama yönteminde olduğu gibi vakum ortamında 60 °C'de 24 saat boyunca polimerizasyona tabi tutulmuştur. Maskelenmiş bölgelerin temizlenmesinin ardından elde edilen film kalınlığını ölçmek için optik profilometre kullanılmıştır.

Sheybani ve ark. (B) aynı monomer ve başlatıcı oranını 1:3:0,1 olarak kullanmışlardır [124]. Bu oranlar ve hazırlanma yöntemi takip edilerek, buz banyosu içerisinde 20 ml CHCl₃ üzerine 4 mmol MAA eklendi ve 10 dakika boyunca ultrasonik sondaya maruz bırakılmıştır. Ardından 30 dakika manyetik karıştırıcı ile karışan çözeltinin içine 12 mmol EDMA ve 0,4 mmol AIBN buz banyosu içerisindeyken eklenmiştir. Ultrasonik sonda 10 dakika daha uygulanmış ve çözeltiden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Yüzeyi 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) molekülleriyle fonksiyonlandırılmış BK7 lameller, önceki örnek gurubunda olduğu gibi iki farklı yöntem kullanılarak polimerizasyon çözeltisi ile kaplanmıştır. Döndürerek kaplama (SC) yöntemi, yüzeyinin yarısı ticari oje yardımıyla maskelenen lamellere 600 rpm hızda uygulanmıştır. Döndürülürken üzerlerine 200 µL polimerizasyon çözeltisi eklenmiştir. Döndürme işlemi 300, 180 ve 60 saniye boyunca sürdürülmüştür.

Polimerizasyon çözeltilisiyle kaplanmış lameller vakum ortamında 60°C'de 24 saat boyunca polimerizasyona tabi tutulmuştur. Maskelenmiş bölgenin temizlenmesinin ardından elde edilen film kalınlığını ölçmek için optik profilometre kullanılmıştır.

İkinci olarak daldırarak kaplama (DC) işlemi uygulanmıştır. Üst yüzeyinin yarısı ve alt yüzeyinin tamamı ticari oje ile maskelenen lameller polimerizasyon çözeltilerine daldırılmıştır. Lameller 1, 2 ve 3 dakika boyunca çözeltide bekletilmiştir. Polimerizasyon çözeltilisiyle kaplanmış lameller, diğer kaplama yönteminde olduğu gibi vakum ortamında 60 °C'de 24 saat boyunca polimerizasyona tabi tutulmuştur. Maskelenmiş bölgelerin temizlenmesinin ardından elde edilen film kalınlığını ölçmek için optik profilometre kullanılmıştır.

II. Üretim Yöntemi:

0,9 mm çap ve 0,13 mm kalınlık boyutlarındaki BK7 camından üretilen lamellere sistamin tabakasının ardından ince film kopolimer kaplanması termal polimerizasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Şablon molekülü: MAA: EDMA: AIBN oranı optimizasyon çalışmalarında başarılı sonuç veren 0,025:0,1:0,5:0,01 olarak belirlenmiştir. Monomer çözeltisi hazırlanırken öncelikle 20 ml kloroform (CHCl_3) içinde 0,05 mmol L-BFA ve 0.2 mmol MAA oda sıcaklığında çözüldü ve 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 0.1 mmol EDMA ve 0,02 mmol AIBN çözeltinin üzerine eklendikten sonra 30 dakika boyunca ultrasonik banyo basamağı tekrarlanmıştır. Ardından çözeltiden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Yüzeyi sistamin molekülleriyle fonksiyonlandırılmış altın kaplı BK7 lameller daldırarak kaplama (DC) işlemine tabi tutulmuştur. Sistamin kaplı yüzeyler N_2 gazı altında polimerizasyon çözeltilerine daldırılmıştır. Lameller 15 ve 20 saniye boyunca çözelti içerisinde bekletilmiştir. Polimerizasyon çözeltilisiyle kaplanmış lameller vakum ortamında 60 °C'de 24 saat boyunca ısı polimerizasyona tabi tutulmuştur. Aynı prosedür kontrol grubu elde etmek için şablon molekülü olmadan tekrarlanmıştır.

3. POLİSİYANAT ESTER NANOÇUBUK (PEN) DİZİLİMLERİNİN OPTİK DAVRANIŞLARI

AAO membran içine doldurulmuş moleküler baskılanmış siyanet ester monomer karışımını altın yüzey üzerinde termal polimerizasyonla sabitlenmesine çalışılmıştır. Fakat nanoçubukların, sisteaminle kaplanmış altın tabakasına tutunması işlemi kısmen başarılı olmuştur. Bunun başlıca sebebi fonksiyonel monomer ve L-BOC-fenilalanine anilid (L-BFA) şablon molekülü ile katkılanmış siyanat ester monomerin çapraz bağlanabilmesi için gerekli olan optimum monomer oranının bir türlü sağlanamamasıdır. Çapraz bağlayıcı monomer oranı (10-100 mmol) arttırıldıkça, XPS ile yapılan analizlerde nanoçubuklar üzerinde şablon molekülüne rastlanılamamıştır. Alternatif olarak çapraz bağlayıcı monomer miktarı azaltılıp, fonksiyonel monomer ve şablon molekülü miktarı arttırıldığında ise altın yüzeyinde sürekli bir nanoçubuk dizilimleri elde edilememiştir. Nanoçubuklar altın yüzeyinde lokal olarak çok dar alanlarda ($\sim 100-500 \mu\text{m}^2$) elde edilmiştir. Sonuç olarak her iki durum için de şablon moleküllerin nano çubuklarda etkin bir şekilde yer almayışı ve kavite kalitesini düşürmesi endişesiyle, termal polimerizasyonla moleküler baskılı nanoçubuk dizilimlerinden vazgeçilmiştir.

Bir diğer alternatif olarak Polisiyanat ester nanoçubukları (PEN) direkt cam alttaş üzerinde büyütülüp daha sonra nanoçubukları üzerine 40-50nm lik altın kaplama işlemi uygulanmıştır. Lokalize plazmonlar elde etmek için altın kaplama nanoçubuk dizilimlerinin üzerlerine 20 ile 40 derece arasında değişen açılarda kaplanmıştır. Altın kaplama açısını kontrol etmek için vakum evaporatör cihazının içine özel tasarlanmış 20°, 30° ve 40° eğimli platformlar yerleştirilmiştir.

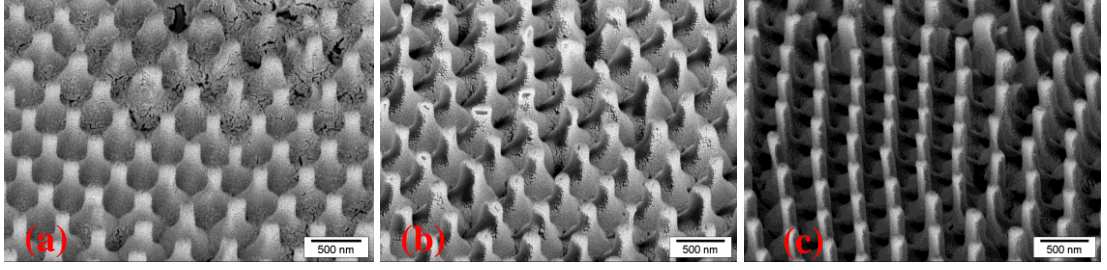
PEN dizilimleri termal polimerizasyonla APTES molekülleri ile modifiye edilmiş cam alttaş yüzeyinde dik olarak başarılı bir şekilde üretilmiştir. Polimer dolununun gerçekleştirildiği porların çap ve uzunluk oranı, dizilimlerin yüzeye dik ve komşu çubuklardan ayrı bir şekilde elde edebilmek için Gitsas ve arkadaşları tarafından üretilen boyutlar referans alınmıştır [102]. Ancak, nanoçubukların en uygun boy/çap oranının 10 ve altında ayarlandığında istenilen stabilitede yüksek yönelimli PEN

dizilimlerinin üretilebildiği görülmüştür. Benzer yapıdaki PEN yapılarının termal ve mekanik dayanıklılık testleri ise Yameen ve arkadaşları tarafından önceden incelenmiş ve raporlanmıştır [108]. Termal analizlere göre PEN dizilimlerinin erime sıcaklığı yaklaşık 172 °C dir. Termal bozunma ise 350 °C de başlar ve 605 °C de nanoçubukların %50 si bozunmaktadır. Tamamen bozunma sıcaklığına ise 700 °C de erişilir.

Nanoçubukların biyosensör uygulamalarında hidrolik ve termal dayanımlarının yanında mekanik dayanıklılıkları da çok önemlidir. Mekanik dayanıklılık testi için Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) bağlantılı ‘Nanoindentation’ testi uygulanmıştır. Temiz bir cam yüzeye yerleştirildikten sonra, ratgele seçilen 3 adet çubuğun değişik noktalarından kuvvet-mesafe (force-distance) eğrileri alınmış ve bu eğrilerden her bir çubuğun Elastik Modülü (Young’s Modulus) hesaplanmıştır. Bu hesaplamalara göre nanoçubukların ortalama elastik modülleri yaklaşık 22 ± 10 GPa civarında bulunmuştur. Yığın polysiyanat esterlerle kıyaslandığında bu yaklaşık 10 kat daha yüksek bir değerdir [125].

Kısmi altın kaplı PEN yapıların üstten gösteren taramalı elektron mikroskop görüntüleri Şekil 3.1’de gösterilmektedir. 20 derecede altın tabakası biriktirmede tüm çubukların homojen olarak kaplandığı, 30 derecede ise her nanoçubuk yüzeyinin kısmen kaplanma gösterdiği tespit edildi. 40 derece kaplama sonucunda her çubuğun sadece tek tarafında ince bir tabaka elde edildi. Literatürde altının farklı moleküllerle kısmi olarak kaplanması sık karşılaşılan bir durum iken [126–128], plazmonik özellikleri geliştirebilmek amacıyla organik yapıların altın metaliyle kısmi olarak kaplanması alanında ulaşılabilen kaynak sayısı kısıtlıdır [129,130]. Bu sebeple bu çalışmada nanoçubuk dizilimlerin kısmi altın kaplama ile optik sinyallerini sıkıştırarak, plasmon rezonansını olabildiğince dar (fwhm) pikler verecek şekilde elde etmek amaçlanmıştır.

Kaplanmış nanoçubuklar üretimin tamamlanmasının ardından optik-dalga kılavuzu yöntemiyle biyotarama çalışmalarına paralel olarak kullanılan UV spektral analizine tabi tutuldu. Farklı boy/en oranına sahip kısmi olarak altın kaplanmış nanoçubukların farklı eğim ve altın kaplama açılarında 400-800 nm dalga boyu aralığında elde edilen UV spektrumları Şekil 3.2’de gösterilmektedir. UV spektrumları incelendiğinde

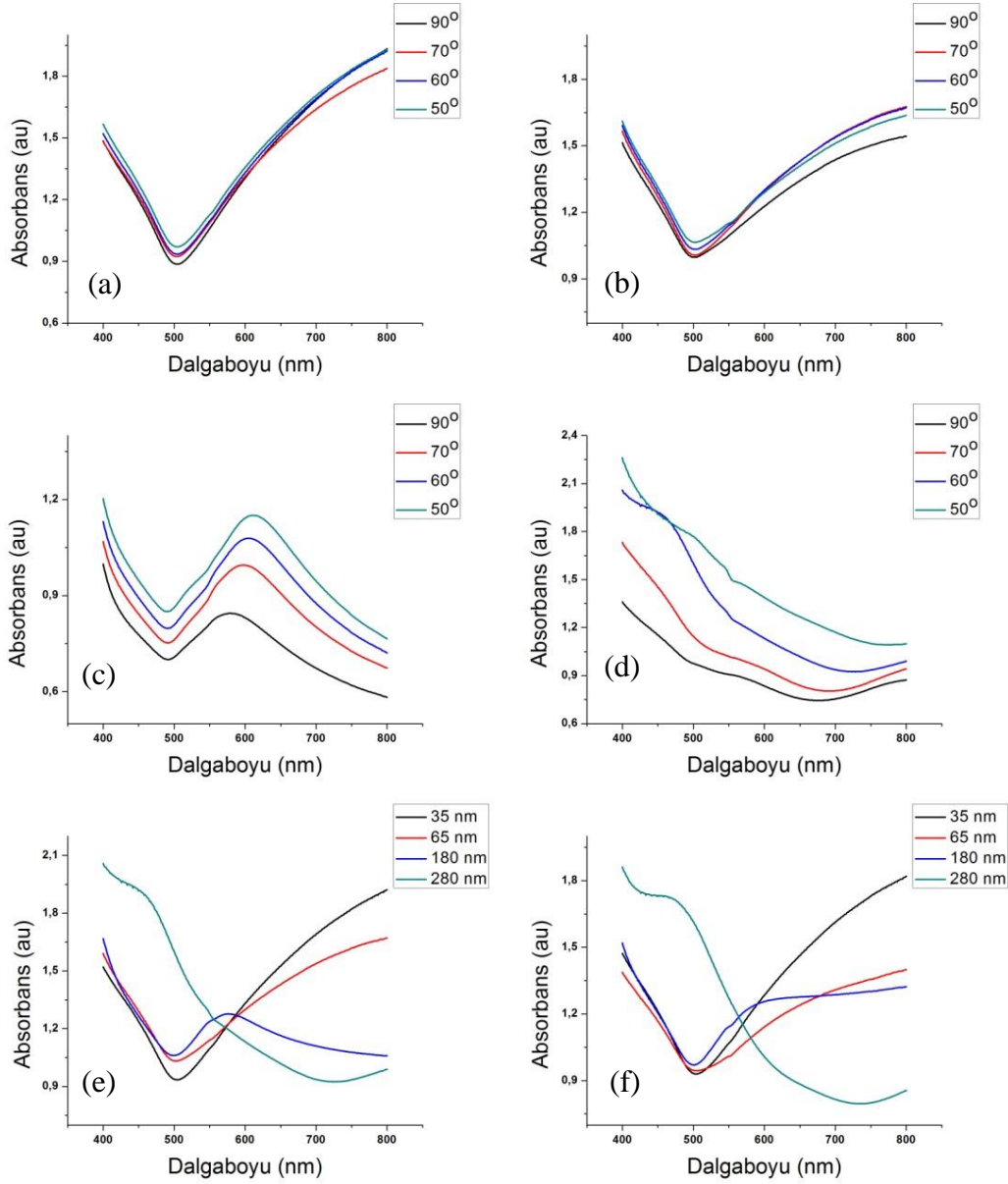


Şekil 3.1: Altın tabakasıyla kaplanmış siyanat ester nanoçubuklarının (a) 20, (b) 30 ve (c) 40 derece eğim açılı taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.

rezonans piklerin en başarılı şekilde 180 nm çaplı nanoçubuklarda 550-650 nm aralığında olduğu gözlemlendi. Kısmi olarak kaplanmış 180 nm çaplı siyanat ester nanoçubukları (40 derece biriktirme açısı) 700 nm civarında güçlü ve geniş bir rezonans gösterdi. Bu rezonansın genişliği nanoçubukların homojen dağılamamasından kaynaklı olabilir (örn. Çap/ uzunluk oranı, çubuklar arası mesafeye fazla kalın altın tabakası). Farklı boy/en oranına sahip kısmi olarak altın kaplanmış nano çubukların farklı eğim ve altın kaplama açılarında elde edilen UV spektrumları incelendiğinde, optimum rezonans değerlerinin 180 nm çap, 40 derece eğimle 40 nm altın kalınlığının olduğu gözlemlendi.

Fan ve arkadaşları Yüzeyle Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi alttaşı olarak tasarlanmış silika nanoçubukların yüzeyini altın ile kaplamış ve benzer UV spektrumu elde etmişlerdir [131]. Bunun dışında 35, 65 ve 280 nm çaplı nanoyapıların ise ışığı toplama özelliğinin rezonans piki oluşturabilecek kadar kuvvetli olmadığı görüldü.

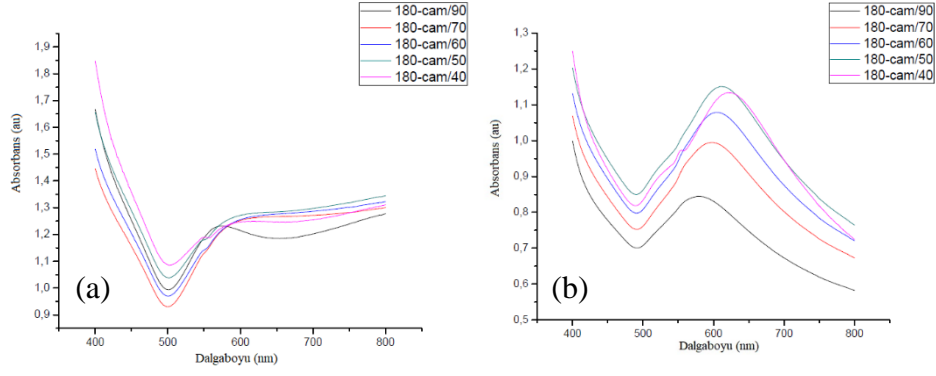
Yaygın olarak karşılaşılan altın nanoçubuklar bir alttaşı yüzeyinde dizilmiş [132] şekilde elde edebilirken çözelti içerisinde serbest [133,134] olarak da üretilirler. Her iki üretim yönteminin UV spektrumları incelendiğinde enine (transverse) ve boyuna (longitudinal) plazmon rezonans pikleri sırasıyla 560 ve 720 nm dalga boylarında gözlenir. Huang ve arkadaşları AAO membran içerisine ilk olarak altın biriktirmiş ardından gözeneklerin boş kalan diğer yarısı polimetil metakrilat polimeri ile doldurarak çekirdek-kabuk yapılar elde etmiştir [132]. 5 nm boyutuna kadar düşük boyutta elde edilen altın uçlu nanoçubukların UV spektrumu incelendiğinde ise boyuna plazmon rezonans pikinin kaybolduğu, ince film altın kaplama durumunda olduğu gibi yalnızca enine plazmon rezonans piki gözlenmiştir. Bu rezonans piki PEN dizilimlerinin yüzeyine altın kaplanması durumunda elde ettiğimiz sonuçlar ile örtüşmektedir.



Şekil 3.2: Farklı kaplama açılarında kısmi altın kaplı siyanat ester nano çubukları ile 20° altın birikimi UV spektrumları (a) 35 nm (b) 65 nm (c)180 nm (d) 280 nm; Farklı kaplama açılarında kısmi altın kaplı nano çubukları UV spektrumları (e) 20° (f) 30°

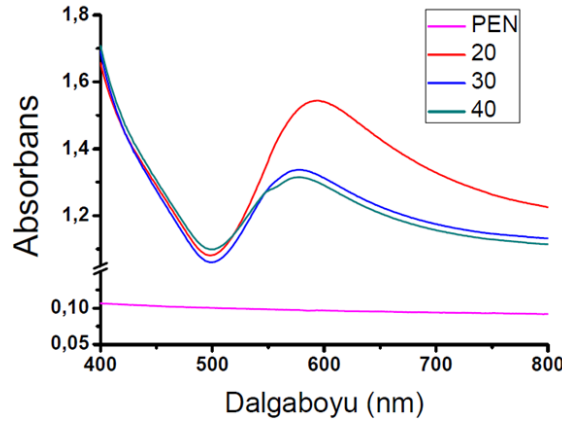
180 nm çaplı polisilyanat ester nanoçubuk dizilimlerinin spektrumlarında enine plazmon rezonans piki gözlendiğinden 30 ve 40 derece açılarında altın kaplanmış nanoçubukların farklı eğim açılarında elde edilen spektrumları incelendi. Işığın yüzeye dik geldiği koşulda en düşük yarı-doruk genişliği gözlenerek farklı açılarda altın kaplamanın etkisi açısından takip edildi.

Şekil 3.4'te geleneksel ölçüm açısında gerçekleştirilen altın kaplanmamış ve 20, 30 ve 40 derece açılarında kısmi altın kaplanmış nanoyapıların UV spektrumları gösterilmektedir. Kaplama açısı arttıkça altın rezonans pikinin yarı-doruk genişliğinde



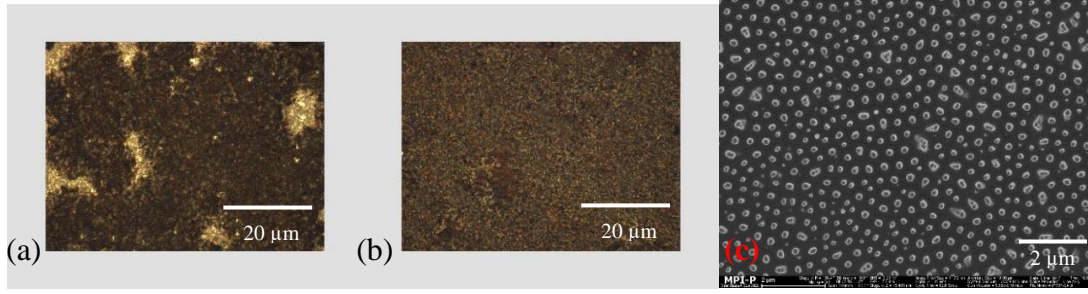
Şekil 3.3: Farklı eğim açılarında (a) 30 ve (b) 40 derece açılarında kısmi altın kaplı siyanat ester nano çubukları UV spektrumları

bir artma eğilimi gözlemlendi. Yüzeyle biriktirilen altın tabakası azalmasının buna yol açmış olabileceği ön görüldü. En dar pik neredeyse tam kaplamanın görüldüğü 20 derece eğim açısıyla kaplama sonucunda elde edilebildi.



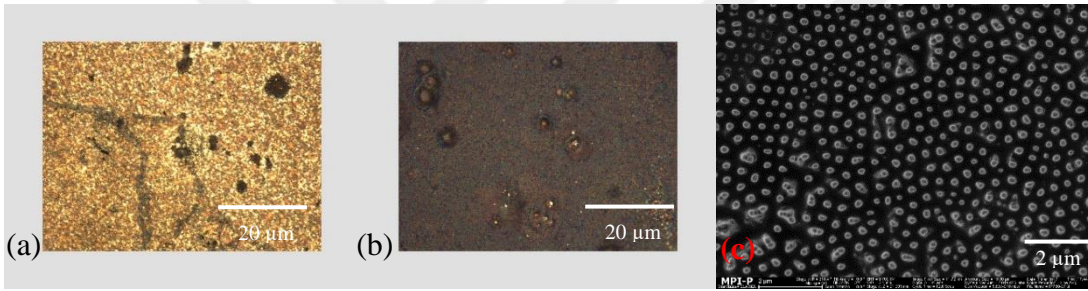
Şekil 3.4: Ölçüm açısı 90 derece olan kısmi altın kaplı ve kaplanmamış nanoçubukların UV spektrumları

180 nm çapa sahip nanoçubukların UV spektrumlarında en düşük yarı-doruk genişliği elde edildiğinden çalışmalara bu boyutlarda üretim gerçekleştirilerek devam edildi. Aynı çapa sahip nanoçubuklar 0,6 ve 1 μm olmak üzere iki farklı uzunlukta üretildi. Alümina tabakalarının uzaklaştırılması aşama aşama optik ve taramalı elektron mikroskoplarıyla paralel olarak takip edildi. 180 nm çap-600 nm uzunluğa sahip örneklerin alümina tabakasındaki kısmi azalma Şekil 3.5.a'da belirtilen optik mikroskop görüntüsünde incelendi. Aşındırma işlemine devam edilerek önceki görüntüler ile karşılaştırma yapıldı ve sürecin tamamlandığına karar verildi. Son basamağın ardından alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri alümina tabakasının tamamen uzaklaştırıldığını göstermektedir (Şekil 3.5.c).



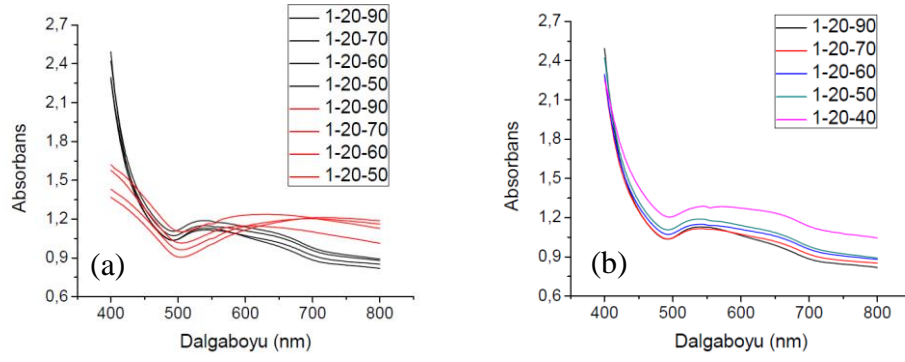
Şekil 3.5: 180/0,6 boyutlarındaki nanoçubukların alumina tabakası aşındırma (a) sırasında ve (b) sonrasındaki optik milroskop görüntüleri ile (c) aşındırma sonrasındaki SEM görüntüsü

Daha yüksek boy/en oranına sahip nanoçubukların serbest bir şekilde elde edilemediği için aynı prosedür tekrar edildi. Aşındırma işlemi süreci optik mikroskop yardımıyla takip edilerek, tamamlandığine karar verildiğinde taramalı elektron mikroskobu görüntüleri incelendi (Şekil 3.6). Alümina tabakanın tamamen uzaklaştırıldığı görüldü.



Şekil 3.6: 180/1 boyutlarındaki nanoçubukların alumina tabakası aşındırma (a) sırasında ve (b) sonrasındaki optik milroskop görüntüleri ile (c) aşındırma sonrasındaki SEM görüntüsü

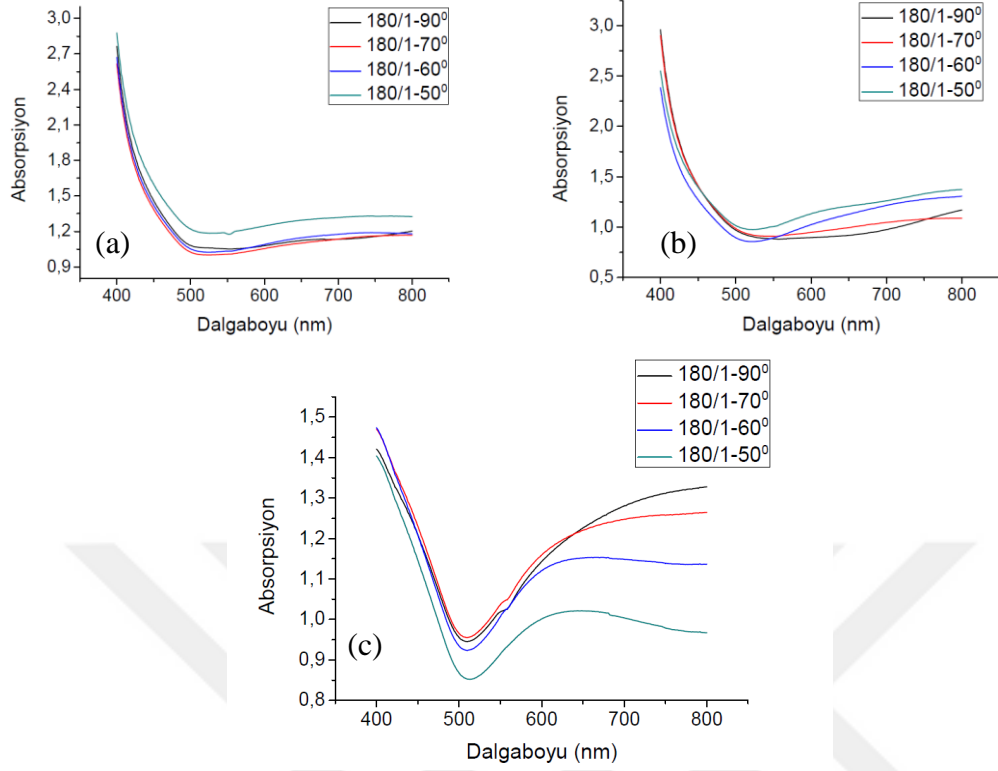
Membranın tamamen uzaklaştırıldığı görülen nanoyapıların plazmonik özellikleri UV spektroskopisi ile incelendi. Aşındırmanın ilk aşamasından sonra altın tabakası ile kaplanan nanoçubukların UV spektrumları kaydedildi. Alümina tabakasının tamamen uzaklaştırılmasının ardından yeniden analiz edilen örneklerin, aşındırma işlemi öncesinde ve sonrasındaki spektrumları karşılaştırıldı. 180/0,6 boyutlarındaki nanoçubukların spektrumları incelendiğinde, alümina tabakası tamamen uzaklaştırılmamışken absorpsiyon piki gözlenemezken, aşındırmanın tamamlanması sonrasında altın rezonans piki elde edilebildi (Şekil 3.7.a). Aşındırma sırasında ve sonrasında elde edilen spektrumlar kendi içlerinde incelendiğinde, iki durumda da analizin yapıldığı döndürme açısı arttıkça yarı-doruk genişliğinde (fwhm) aynı eğilim görüldü (Şekil 3.7.b).



Şekil 3.7: Farklı döndürme açılarında elde edilen 180/0,6 boyutlu nanoçubukların UV spektrumları (a) aşındırma sırası ve sonrası (b) aşındırma sonrası

180/1 boyutlarındaki nanoyapıların 20, 30 ve 40 derece eğim açısıyla kaplanmasının ardından elde edilen UV spektrumları Şekil 3.8’de gösterilmektedir. Nanoçubukların boy/en oranında artış olması ile davranışın tersine döndüğü gözlemlendi. Kısmi olarak 40 derece açı ile kaplanmış nanoçubukların yüzeye daha yüksek eğimle ışık gönderildiği koşullarda altın pikinin oluşma eğilimi gösterdiği görüldü. 20 ve 30 derece eğim açısıyla kaplanan çubuklarda herhangi bir rezonansa rastlanılmadı.

Bu noktadan sonra nanoçubukların kararlı ve bir bütün olarak üretilmemesinden dolayı denemelere devam edilemedi. Fakat bu çalışma, kimyasal aşındırma basamağı daha seyreltik çözeltilerle gerçekleştirilirken aynı zamanda taramalı elektron mikroskobu yardımıyla takip edildiği durumda üretim sorunsuz gerçekleştirilebilir. Bu durumda altın metaline daha büyük bir molekül bağlanması denenebilir. Nitekim Yang ve ark.¹⁹⁴ polipirol kaplı silika nanoçubuk yüzeyine glutamik asit baskılama işlemi gerçekleştirerek bağlanma elde edebilmişlerdir. Aynı zamanda yüksek düzenlilik içeren bu yapılar Yüzey Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) için elverişli zeminler olarak değerlendirilebilirler. Uygun koşullar optimize edilerek yüksek düzenlilikteki nanoçubuklar plazmonik özellikleri sayesinde geliştirilebilirler.



Şekil 3.8: (a) 20, (b) 30 ve (c) 40 derece açılarında altın kaplanan 180/1 boyutlu nanoçubukların UV spektrumları

4. SİLİKA NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, YÜZEY MODİFİKASYONU VE KARAKTERİZASYONU

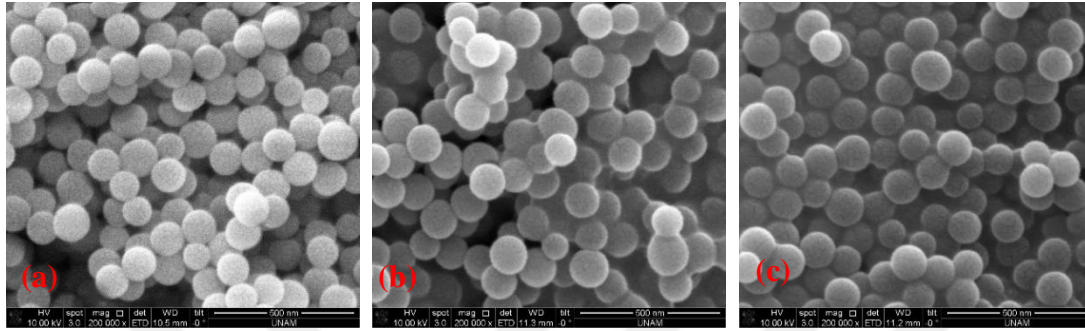
4.1 Silika Nanokürelerin Yüzeyinde RAFT Polimerizasyonu Yöntemi ile L-Boc-Fenilalanin Anilid Baskılanması ve Karakterizasyonu

Moleküler baskılama işlemi silika nanoparçacıklarının yüzeyinde gerçekleştirildi. İlk olarak yüzey APTES molekülleri ile fonksiyonlandırıldı. Literatür incelendiğinde oldukça sık karşılaşılan bu tabakanın amacı polimerizasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan başlatıcı moleküllerini silika yüzeyine sabitleyebilmektir [135–137]. Ardından yüzeye moleküler baskılama işlemi, şablon molekülü ve kümilditiyobenzoat RAFT ajanı varlığında, fonksiyonel monomer metakrilik asit (MAA) ve çapraz bağlayıcı monomer etilenglikol dimetakrilat (EDMA) ile UV ışığı altında RAFT polimerizasyonu gerçekleştirildi.

4.1.1 Silika nanoparçacıkların üretimi ve başlatıcı tabakası ile kaplanması

İlk olarak silika nanoparçacıkların sentezi gerçekleştirilerek, yüzeyin 3-aminopropiltrioksil silan molekülleriyle kaplanmasının ardından başlatıcı tabakası sabitlendi. Birleştirme tabakası olarak bu çalışmada APTES kimyasalı kullanılırken literatür incelendiğinde farklı silan bileşiklerine de rastlanılmaktadır. Kimyasal modifikasyonların ileri basamaklarda gerektirdikleri göz önünde bulundurularak bu tabakada kullanılan silan tabakası değiştirilebilir. 3-aminopropiltrimetoksil silan aynı aktif uçlara sahip fakat yan zincirin bir karbon daha kısa olduğu silan bileşiğidir. Tekrarlanabilir tabakalar oluşturma eğilimi APTES ile kıyaslandığında daha düşüktür [138]. 3-kloropropiltrioksil silan halojen atomuyla sonlanan bir zincir oluşturduğundan halka yapıda kimyasallar ile kaplamaya olanak sağlamaktadır[139]. Son iki yılın yayınları incelendiğinde ise alken uç grubu içeren silan bileşiklerinin kullanımının arttığı görülmektedir. Örneğin 3-(trimetoksil) propil metakrilat, birleştirme tabakasına ek olarak kopolimerizasyon işleminde fonksiyonel monomer görevinde de kullanılabilir[140,141].

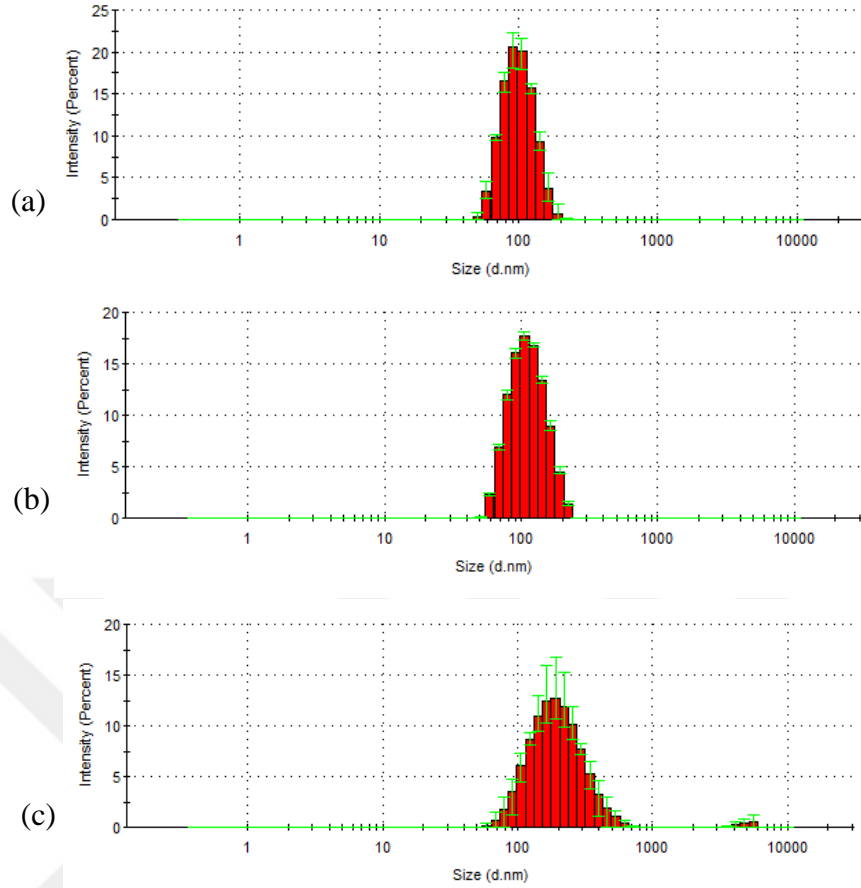
İşlem görmemiş silika nanoparçacıklar ile yüzeyi APTES ve ardından başlatıcı tabakası ile kaplanan nanokürelerin Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri Şekil 4.1’de gösterilmektedir. Nanoparçacıkların oldukça homojen bir dağılım gösterdiği, her bir kaplama basamağının ardından parçacıkların birleşme noktalarında tabaka kalınlığının artış gösterdiği tespit edildi.



Şekil 4.1: Yüzeyi (a) kaplanmamış, (b) APTES ve (c) başlatıcı tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüsü (Ölçek çubuğu tüm görüntüler için 500 nm’dir.)

Silika nanoparçacık boyut dağılımını daha hassas olarak belirlemek amacıyla Dinamik Işık Saçılması (DLS) yöntemi de kullanıldı. Gerçekleştirilen 3 farklı ölçümün ortalaması olarak ifade edilen sonuçlar incelendiğinde yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmemiş silika nanoparçacıkların hidrodinamik çapları $95,19 \pm 23,63$ nm olarak elde edildi. APTES tabakasının parçacık boyutunda artışa sebep olduğu ve hidrodinamik çapın $105,1 \pm 34,6$ nm’ye ulaştığı görüldü. Aynı şekilde başlatıcı tabakası kaplanmış silika nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı ise $177,4 \pm 63,5$ nm olarak elde edildi (Şekil 4.2). Üç farklı nanoparçacık için de hidrodinamik çap dağılımı grafiği incelendi ve homojen bir davranış gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Ayrıca, yüzeyde bulunan organik tabaka sayısı artışının dağılımı da genişlettiği görüldü.

Yüzey modifikasyonlarının başarısı XPS analizi yapılarak takip edildi (Şekil 4.3). APTES tabakası silika nanoparçacık yüzeyinde bulunan oksijene bağlanırken, $-NH_2$ ucu ise serbest kalmaktadır. Karbon ve azot atomunun yüksek çözünürlüklü taraması gerçekleştirildiğinde, azot atomunun karbon ve hidrojen ile yaptığı bağ enerjilerinde pikler elde edildi. Silikona bağlı karbon zincirindeki C-H bağının piki 284,61 eV bağlanma enerjisinde, C-C ve C-N bağlarının pikleri ise sırasıyla 285,2 ve 287,83 eV bağlanma enerjilerinde elde edildi [142,143]. Yüksek çözünürlüklü azot taraması sonucu incelendiğinde ise N-C ve -N-H bağlarından kaynaklanan piklerin 399,25 ve



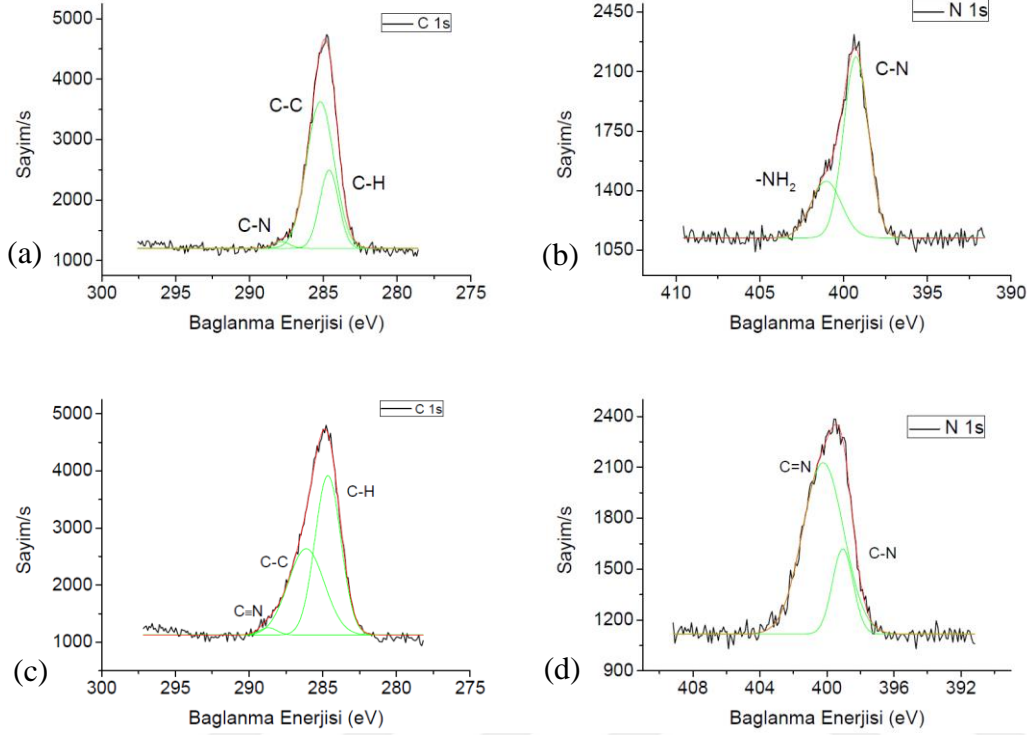
Şekil 4.2: Yüzeyi (a) kaplanmamış, (b) APTES ve (c) başlatıcı tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Dinamik Işık Saçılması ölçümleri

401,14 eV bağlanma enerjilerinde belirtildiği görüldü. APTES ile modifikasyonun gerçekleştiğine TEM ve XPS sonuçları göz önünde bulundurularak karar verildikten sonra başlatıcı tabakası ile kaplama işlemi uygulandı. C-C ve C-H bağlarının pikine ek olarak başlatıcının yapısında bulunan siyanat grubundan kaynaklanan pik 288,67 eV bağlanma enerjisinde elde edildi. Azot taraması incelendiğinde ise karbon azot tekli bağının piki şiddeti azalmış bir şekilde gözlenirken, başlatıcı kimyasalının içerdiği siyanat grubu varlığında elde edilen pik 400,25 eV bağlanma enerjisinde görüldü. Başlatıcı APTES moleküllerine $-NH_2$ uç grubundan bağlandığından bu pik başlatıcı tabakası kaplanmış silika nanoparçacıkların azot taramasında görülmedi.

4.1.2 RAFT ajanı karakterizasyonu

RAFT polimerizasyonu kontrollü zincir büyümesi sağlayan etkili bir yöntemdir. Düzenli molekül ağırlığı artışında en önemli rolü RAFT ajanı oynar. Bu sebeple RAFT

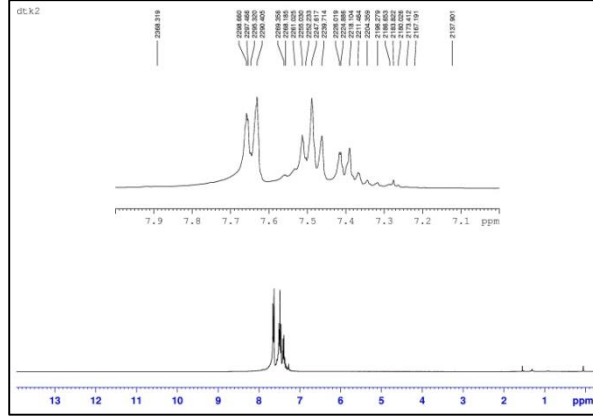
ajanının yüksek saflıkta üretilmesi gerekir. Bu amaçla Wang ve arkadaşlarının 2014'te raporladığı yöntem denenmiştir [144]. Bu prosedüre göre 2-fenilpropen-2-il



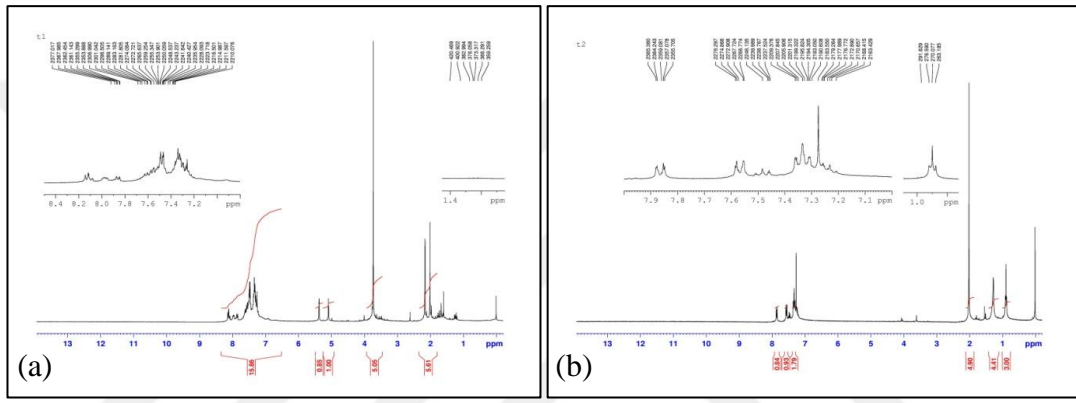
Şekil 4.3: APTES (a, b) ve başlatıcı (c, d) tabakaları ile kaplanmış silika nanoparçacıkların yüksek çözünürlüklü C 1s (a, c) ve N 1s (b, d) XPS taramaları

ditiyobenzoat sentezi iki basamakta gerçekleştirilmektedir. İlk olarak ditiyobenzoik asit üretimi gerçekleştirilerek, elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumu (Şekil 4.4) incelendiğinde, sentezin başarılı olduğu sonucuna varıldı. δ 7,40-8,20 ppm arasındaki çoklu pikler, ditiyo benzoik asit yapısında bulunan aromatik benzen halkasındaki hidrojenlerden kaynaklanmaktadır. δ 6,2 ppm kimyasal kaymada gözlenen pik ise -S-H gurubundaki hidrojenin varlığını ispatlar.

İlk basamakta safsızlık içermeyen ditiyobenzoik asitin sentezi gerçekleştirildikten sonra 2-fenilpropen-2-il ditiyobenzoat üretilmiştir. Sentezin hemen ardından elde edilen spektrumda beklenen pikler elde edilmiştir fakat safsızlık miktarının yüksek olduğuna karar verildi. Bu sebeple kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilerek ve polimerizasyonda kullanılacak RAFT ajanı sentezi tamamlandı. ¹H NMR spektrumu incelendiğinde δ 2,03 ppm civarında 6 adet hidrojen atomunun varlığını gösteren pik, ürünün yapısında bulunan -CH₃ gruplarına, δ 7,20-7,85 ppm bölgesindeki çoklu pikler ise benzen halkasındaki hidrojenlere aittir[145].



Şekil 4.4: RAFT ajanı ditiyobenzoik asitin ^1H NMR spektrumu

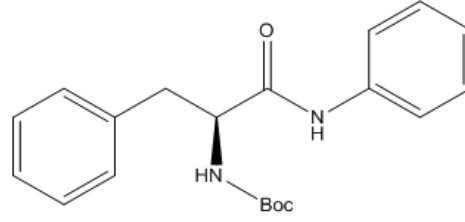


Şekil 4.5: RAFT ajanının kolon kromatografisi ile saflaştırılmasından (a) önce ve (b) sonra elde edilen ^1H NMR spektrumları

RAFT polimerizasyonu uygulama sayısının artışı ile birlikte sık karşılaşılan RAFT ajanlarından bazılarının ticari olarak da temin edilebilmektedir [146–148]. Hazır ajanların kullanıldığı çalışmalara son zamanlarda rastlanılmakla birlikte sentezin yayın sahibi grup tarafından gerçekleştirildiği projeler de halen yaygındır [149–152].

4.1.3 Şablon molekülü (L-fenilalanin anilid) karakterizasyonu

Baskılama işlemini gerçekleştirmek için şablon molekülü olarak L-fenilalanin anilid molekülü seçildi. Sistemi test etmek için gerekli olan benzer yapılarının kolay bulunabilirliği sebebiyle oldukça sık tercih edilen bir kimyasaldır. Fakat ticari üretimi bulunmayan şablonun eldesi için sentezlenmesi gerekmektedir. İki basamakta gerçekleştirilen sentezde ilk olarak L-Boc- fenil alanin molekülü üretilerek koruma grubu yapıdan uzaklaştırıldı.



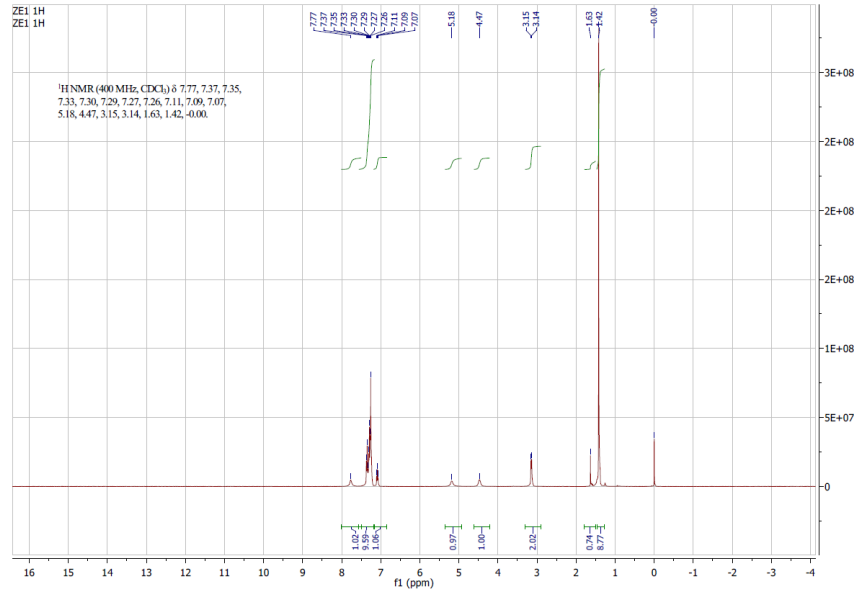
Şekil 4.6: L- BOC-Fenilalanine anilid (L-BFA) molekülünün kimyasal yapısı

L-Boc fenilalanin anilid molekülünün dötoro CDCl_3 çözücüsünde alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda δ 1,42 ppm'de gözlemlenen pikin koruma grubunun protonlarına aittir. δ 1,63 ppm kimyasal kaymadaki tek proton, koruma grubunun bağlı olduğu azottaki hidrojenin varlığını gösterirken, δ 3,14 pmm civarında görülen pikin β -karbonunda bulunan iki hidrojen kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. δ 4,47 pmm'deki proton ise α -karbondaki tek hidrojenin varlığını teyit etmiştir. δ 5,18 pmm'de anilid grubunun benzen halkasında para pozisyonunda bulunan hidrojen görülürken, δ 7,26 – 7,37 pmm aralığında gözlenen multipler pikler aromatik benzen halkalarındaki diğer hidrojenlerden kaynaklıdır. δ 7,77 pmm kimyasal kaymadaki proton karbonil grubuna bağlı azotun protonuna ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7) [153].

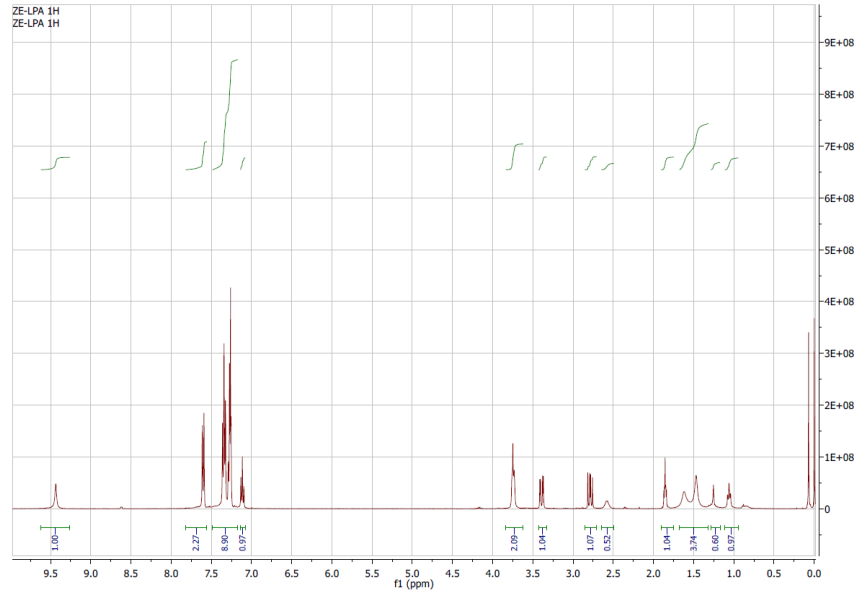
Başarıyla sentezlenen L-BFA kimyasalından koruyucu grup uzaklaştırılmasının ardından tekrar $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelenmiş ve maddenin az bir safsızlıkla elde edildiği görüldü. CDCl_3 içerisinde çözünen maddenin spektrumunda δ 1,0-1,70 pmm arasında gözlenen pikler safsızlıklardan kaynaklı olup, δ 1,95 ppm deki pik koruyucu grubun uzaklaştırılmasıyla azot üzerinde sayısı ikiye çıkan hidrojenlere aittir. δ 2,85 ve 3,67 pmm de görülen pikler α - ve β - karbonlarındaki hidrojenlerin varlığını doğrularken, δ 7,13 ppm de anilid halkasındaki para pozisyonunda olan hidrojenlerin piki gözlenmiştir.

δ 7,24-7,39 pmm deki multipler, anilid halkasının meta ve aromatik halkanın hidrojenlerini teyit ederken δ 7,62 ppm deki dublet anilid halkasının orto hidrojenlerinin varlığını ispatlar, δ 9,3 ppm de görülen singlet ise karbonil grubu ve aromatik halka arasındaki azota bağlı olan hidrojen kaynaklıdır [153].

Literatür incelendiğinde şablon molekülünün koruma grubu varlığında ve yokluğunda baskılanabildiği durumlarla karşılaşılabilmektedir. Günter E.M. Tovar ve grubuna ek olarak Jakub Dostalek ve grubu da yayınlarında koruma ajanını uzaklaştırmadan



Şekil 4.7: L- BOC-Fenilalanine anilid (L-BFA) molekülünün ¹H NMR spektrumu

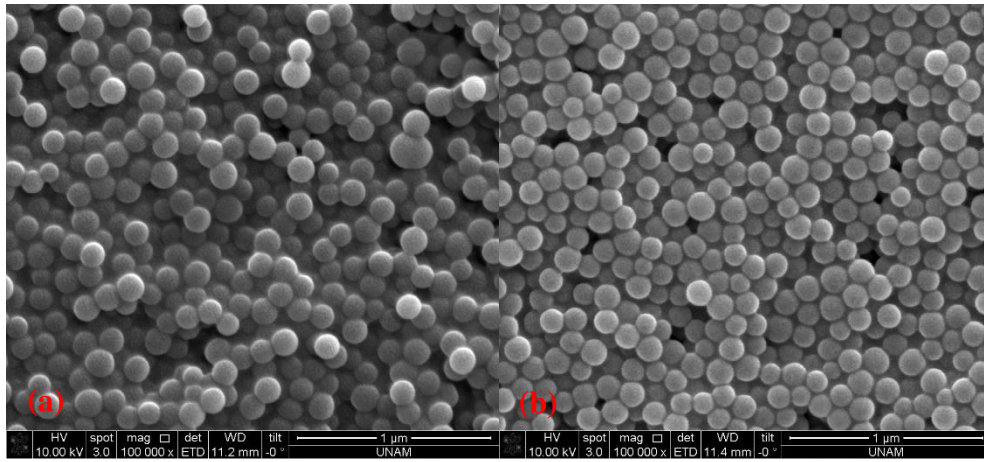


Şekil 4.8: L-Fenilalanine anilid (L-FA) molekülünün ¹H NMR spektrumu

baskılama gerçekleştirirken [154–156], moleküler baskılama alanında önde gelen Börje Sellergren grubunun ise şablon ve benzer molekülleri kullanırken yapıdan koruma grubunu uzaklaştırdığı görülür [157,158]. International Journal of Molecular Sciences dergisinde 2011 yılında yayınlanan bir makaleye göre yapıda koruyucu grubun bulunması molekülü stabilize ettiğinden moleküler tanımda önemli bir rol oynadığından bahsedilmiştir [159]. Bu sebeple bu çalışmada koruyucu grup varlığında incelemeler gerçekleştirilmiştir.

4.1.4 Silika nanoparçacıkların yüzeyinde raft polimerizasyonu gerçekleştirilmesi

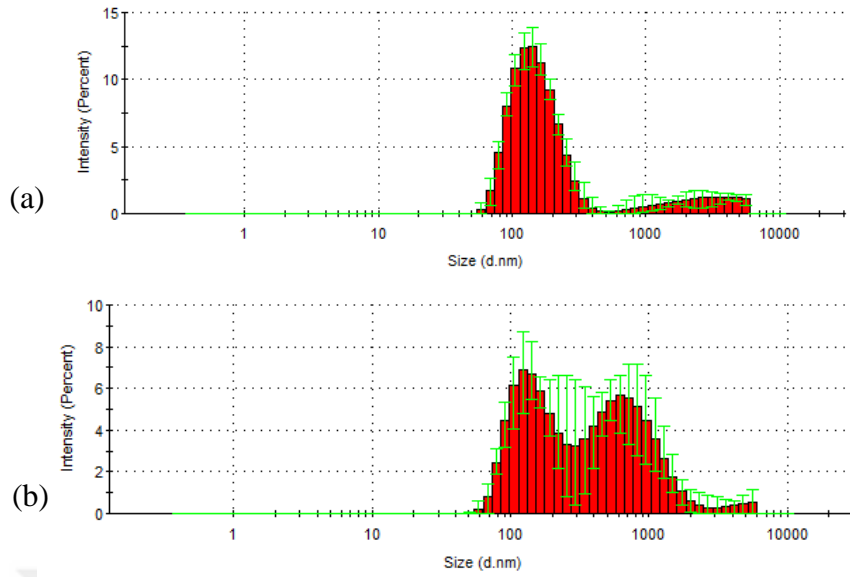
RAFT ajanı sentezlenmesi adımı tamamlandıktan sonra, azo-başlatıcı ile kaplanmış olan silika nanoparçacıkları yüzeyinde RAFT polimerizasyonu uygulandı. 1,5 ve 2 saatlik sürelerde UV ışığı altında gerçekleştirilen polimerizasyon sonrasında üretilen nanoparçacıkların TEM görüntüleri incelendiğinde parçacıkların özellikle birleşim noktalarında polimer tabakasının görüldüğü, polimerizasyon süresinin artmasıyla tabakanın yoğunlaştığı belirgindir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Yüzeyi azo-başlatıcı ile kaplanmış silika nanokürelerinin Geçirimli Elektron Mikroskobu görüntüleri (Ölçek çubuğu iki görüntü için 1 µm'dir.)

Silika nanoparçacık boyut dağılımını ölçmek amacıyla Dinamik Işık Saçılması yöntemi kullanıldı. Gerçekleştirilen 3 farklı ölçümün ortalaması olarak ifade edilen sonuçlar incelendiğinde 1,5 saat UV polimerizasyonuna maruz bırakılmış silika nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı $157,5 \pm 51,6$ nm olarak elde edildi. 2 saatlik polimerizasyon süresinde oluşan polimer tabakasının hidrodinamik çapta artışa sebep olduğu ve çapın $242,30 \pm 54,20$ nm'ye ulaştığı görüldü (Şekil 4.10). Yüzeyde bulunan organik tabaka sayısı artışı hidrodinamik çap dağılımını genişletmiştir. 1,5 saat polimerizasyona tabi tutulmuş yüzeyde yeterince kalınlık artışı elde edilemediğinden bağlanma testlerinde 2 saat polimerizasyon süresinde üretilmiş nanoparçacıklar kullanıldı.

1,5 ve 2 saat boyunca gerçekleştirilen polimerizasyon sonrasında XPS analizi gerçekleştirildi. Polimerizasyon sırasında kullanılan RAFT ajanı yapısında kükürt atomu içerdiğinden polimer tabakasının varlığı yüksek çözünürlüklü S 2p taraması ile

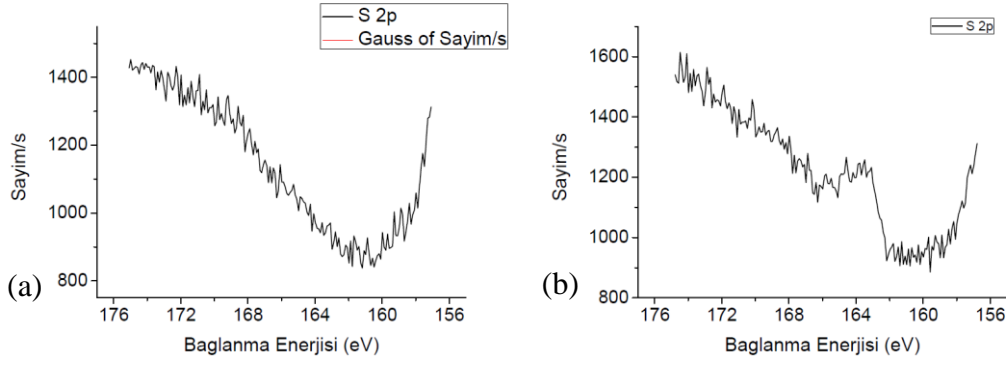


Şekil 4.10: Yüzeyi (a) 1,5 saat ve (b) 2 saat boyunca polimer tabakasıyla kaplanmış silika nanoparçacıklarının Dinamik Işık Saçılması ölçümleri

takip edildi. 2 saat polimerizasyon sonucunda üretilen polimer tabakasının XPS spektrumu incelendiğinde S 2P pikinin belirgin bir şekilde elde edildiği görülmektedir. Fakat daha az süre UV ışığında karıştırılarak gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda silika nanoparçacıklarının yüzeyinde elde edilen polimer tabakasının yüksek çözünürlüklü kükürt taraması gözle görülebilir bir sonuç vermemiştir. Bu durumun 1,5 saat polimerizasyon süresinin XPS hassasiyetinin düşük olduğu bilinen S elementinin tayini için yetersiz kalınlıkta polimer tabakası ile sonuçlanmasından kaynaklanmaktadır [160]. Buna ek olarak elde edilen taramaların atomik yüzdeleri ve C/N oranları aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir.

Çizelge 3 Saf ve modifiye edilmiş silika nanoparçacık yüzeylerinin XPS yöntemi sonucunda elde edilen atom oranları

Örnek adı	Si	C-teorik	C	O-teorik	O	N-teorik	N	S-teorik	S	C/N-teorik	C/N
Si np	30,5	-	9,18	46,75	60,3	-	-	-	-		
Aptes kaplı	28	25,95	18,2	23,74	49,4	8,41	4,43	-	-	3,09	4,11
Azo-in kaplı	5,95	58,05	25,3	19,37	43,7	16,13	14,9	-	-	3,60	1,70
1,5h	22,2	68,26	31,2	21,35	42,1	4,27	4,51	1,87	-	15,99	6,91
2h	21,3	68,26	34,4	21,35	39,5	4,27	4,53	1,87	-	15,99	7,59

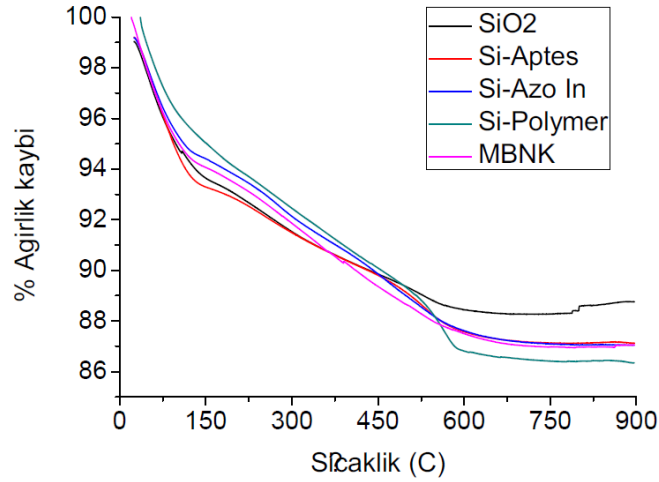


Şekil 4.11: Yüksek çözünürlüklü kükürt taraması spektrumları (a) 1,5 ve (b) 2 saat polimerizasyon süresi

Saf, APTES ve başlatıcı tabakası ile kaplanmış silika nanoparçacıkların ısı karakterizasyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.12). Hiçbir işlem uygulanmamış saf silikanın termogramı incelendiğinde 150 °C sıcaklığına kadar gerçekleşen kütle azalmasının nem ve yüzeye tutunmuş olabilecek safsızlıklardan kaynaklandığı öngörüldü. 550 °C sıcaklığa kadar devam eden değişim ise nanoparçacık yüzeyinde bulunan silanol gruplarının bozunması sonucunda oluşmuştur [161,162]. Toplam kütle kaybı oranı %10,26 olarak saptandı. APTES kaplanmış nanoparçacık analizinin sonucunda ise bu oran %12,08 olarak elde edildi. Kütle kaybındaki artış, yüzeye kaplanmış olan APTES molekül tabakasının bozunmasından kaynaklandı.

Başlatıcı molekülleri ile modifiye edilmiş nanoparçacık analizinin sonucunda ise bozulan toplam kütle miktarı %12,14 olarak elde edildi. Silika nanoparçacık yüzeyinde gerçekleştirilen modifikasyonların varlığı, kütle kaybındaki artış izlenerek teyit edildi. Herhangi bir baskılama işlemi uygulanmamış polimer tabakası ile kaplı silika nanoparçacıkların kaydedilen kütle kaybı %13,64 iken, şablon molekülü baskılanmış ve yıkama işlemi ile uzaklaştırılmış polimer tabakası kaplı nanoparçacıkların toplam kütle kaybı ise %12,17'dir. Polimer yüzeye baskılama gerçekleştirildikten sonra şablon molekülünün uzaklaştırılmadığı silika nanoparçacık örneğinde %13,28 kayıp gözlemlendi.

Yüzeyinde herhangi bir işlem gerçekleştirilmemiş silika nanoparçacıklar 40 °C'de gece boyu degaz için bekletildi. Analizin ardından yüzey alanı BET teorisi ile hesaplanarak 69,07 m²/g olarak elde edildi. APTES ve başlatıcı tabakasının yüzeye kaplanmasının ardından alanda belirli ölçüde düşme gözlemlendi. Gözenekli silika



Şekil 4.12: Yüzeyi kaplanmamış, APTES, başlatıcı tabakasıyla ve baskılanarak (MBNK) ve baskılanmadan (Si-Polimer) 2 saat polimerizasyon süresince kaplanmış silika nanoparçacıkların termogramı

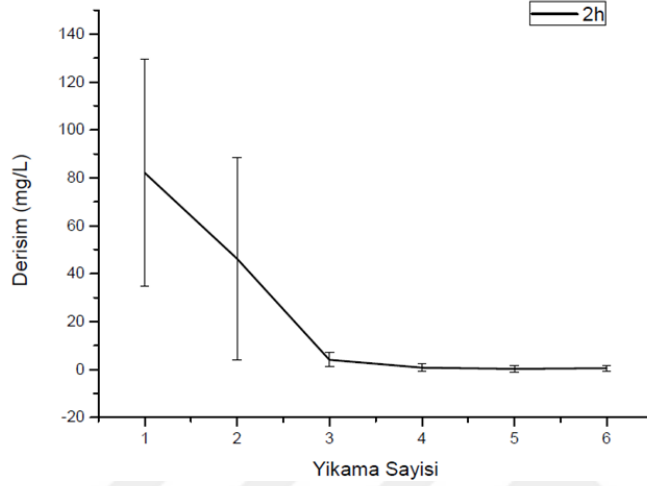
Çizelge 4: Saf ve modifiye edilmiş silika nanoparçacık yüzeylerinin BET teorisi ile hesaplanan yüzey alanları

Örnek adı	Yüzey alanı (m ² /g)
SiO ₂	69,07
SiO ₂ -Aptes	13,99±1,07
SiO ₂ -Azo başlatıcı	13,49±0,79
SiO ₂ -Baskılanmış (şablon uzaklaştırılmış) polimer	17,30±1,58
SiO ₂ -Baskılanmamış polimer	12,22±2,77

nanoparçacık yapısının kaplama sonucunda azalması buna yol açmıştır. Baskılanmış ve baskılanmamış polimer tabakası ile kaplanmış nanoyapıların yüzey alanı karşılaştırıldığında ise baskılama işleminin yüzeyde yaklaşık 5 m²/g miktarında bir artışa sebep olduğu görüldü. Yüzey alanındaki bu değişimin polimer tabakasında elde edilen şablon molekülü kavitelelerinden kaynaklandığı öngörüldü.

Nanoparçacık yüzeyinde elde edilen bu kaviteleler şablon molekülünün polimere baskılanmasıyla üretilir. Bu sebeple tasarlanan sensörün sorunsuz çalışabilmesi için gerçekleştirilen polimerizasyonun ardından baskılanan molekülün meydana getirdiği kavitelelerden çıkarılabilmesi gerekir. Şablon molekülünün uzaklaştırılmasını test etmek amacıyla reaksiyon bitiminden sonra her santrifüj ile yıkama işleminin ardından

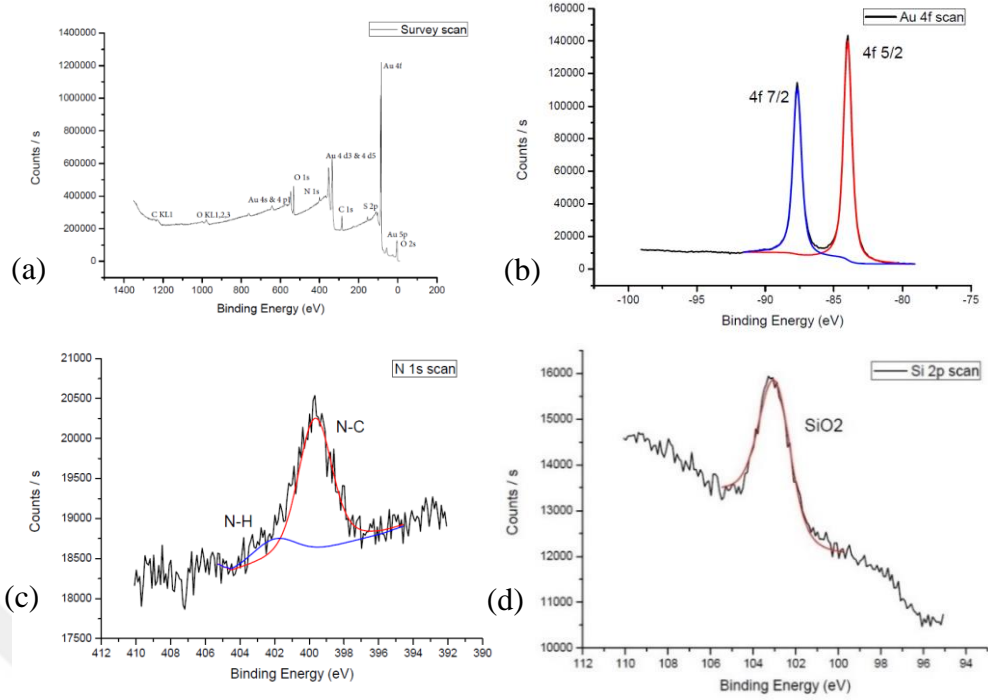
atık çözeltilerden örnek alınarak UV Spektroskopisi ile absorbans değerleri takip edildi (Şekil 4.13). İlk iki yıkama sırasında şablon molekülünün büyük bir kısmının uzaklaştırıldığı tespit edildi. Baskılama işlemi uygulanmış polimer tabakası üçüncü yıkama sırasında 1 mg/ml daha derişik atık çözeltili üretse de 4 ve 5. yıkamalarda derişim sıfırlandığı görüldü. Bu durumda polimer tabakasına tutunmuş baskılama molekülü kalmadığına sonucuna varıldı.



Şekil 4.13: 2 saat boyunca polimerizasyona maruz bırakılan silika nanoparçacıkların yıkama işlemi süresince uzaklaştırılan şablon molekülü derişimi (grafikte düz çizgi deneysel verilerin eğilimini takip edebilmek için kullanılmıştır).

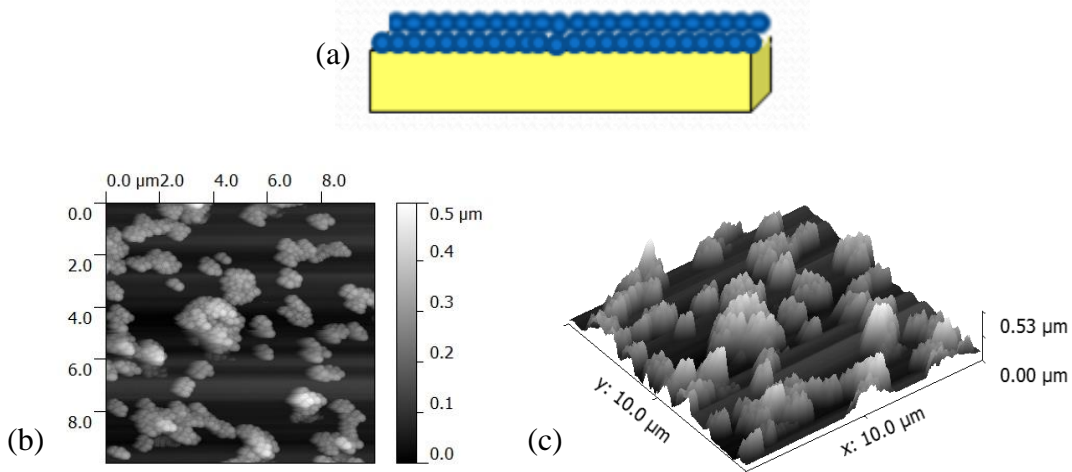
Reaksiyon sonucunda elde edilen ürün altın kaplı cam yüzey üzerine sabitlendi. Şekil 4.14'te gösterilen XPS analiz sonuçları, başlatıcı kaplamasının varlığını, kaplamanın bazı bölgelerde topaklanmasından dolayı altın yüzeyinde boş kalan alan olduğunu ve silika nanoparçacıklarının yüzeyde bulunduğunu göstermiştir [163][164].

Şekil 4.15.a'da şematik gösterimine yer verilen sistemin AFM taraması gerçekleştirilerek, nanoparçacıkların beklendiği gibi ince bir tabaka yerine, adacıklar halinde ve heterojen dağılım göstermiş bir şekilde altın yüzeyine tutunduğu 2 ve 3 boyutlu şekilde görüldü (Şekil 4.15.b ve c). Homojen kaplama elde edebilmek için, 1 g/L derişiminde nanoparçacık içeren çözeltili 15 dakika boyunca sonikasyona maruz bırakıldıktan sonra, altın tabakası çözeltili içine yerleştirilerek 6 saat boyunca bekletildikten sonra metanol ile yıkandı. Ardından 50°'de 1 saat ısıtma işlemine maruz bırakılan yüzeyin optik mikroskop görüntüleri incelendi (Şekil 4.16-a ve Şekil 4.16-b). Yüzeyde homojen kaplanmış bölgeler bulunduğu tespit edilse de, kısmen boşlukların olduğu görüldü.



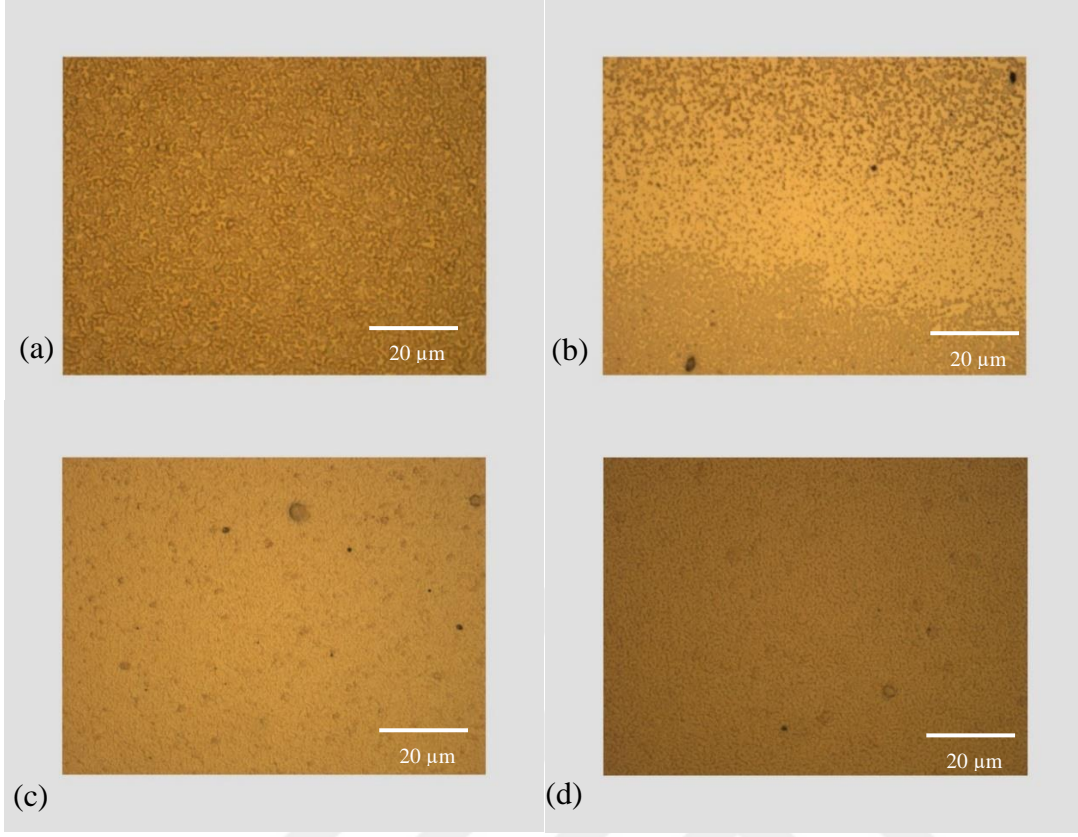
Şekil 4.14: Yüzeyi kaplanmış silika nanokürelerinin XPS (a) yüzey (b) Au 4f (c) N 1s ve (d) Si 2p taramaları

Bunun üzerine daldırılmalı kaplama işlemi tekrarlandı. Yüzeyler aynı derişimdeki çözeltiliye daldırılarak 6 saat daha bekletilmiş ve tekrar optik mikroskop ile incelendi. Yüzeyin farklı bölgelerinden alınan görüntüler, altın tabakasının tamamen nanoparçacıklar ile kaplanabildiğini gösterdi (Şekil 4.16-c ve Şekil 4.16-d).



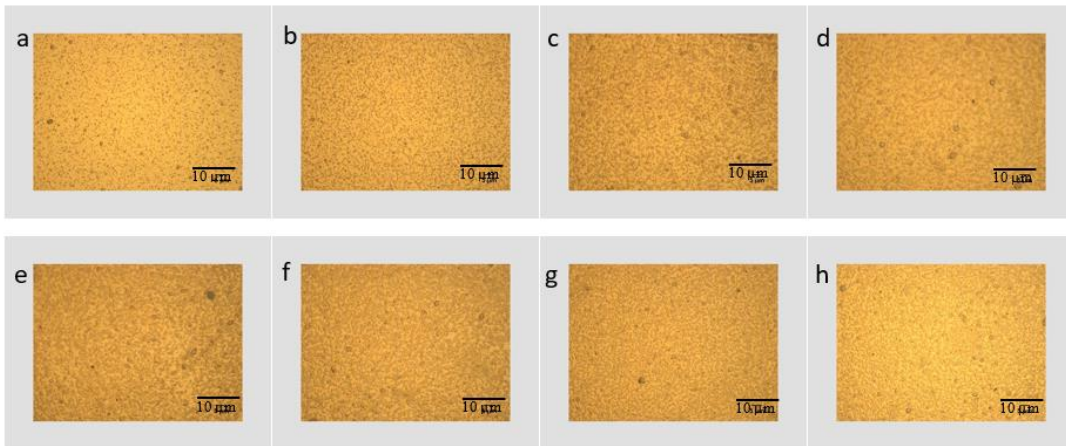
Şekil 4.15: Altın yüzeye tutunmuş kopolimer kaplı nanoparçacıkların (a) şematik gösterimi; (b) 2-boyutlu (2D) 3ve (c) -boyutlu (3D) AFM görüntüleri

Şekil 4.16'da gösterilen yüzeylerde topaklanma oluşması sebebiyle, daha homojen bir yüzey elde edebilmek için filtre yüzeyinde kaplama işlemi uygulandı. Öncelikle 1 mg/ml derişiminde nanoküre içeren çözeltili metanol içerisinde hazırlanmış ve kaplama



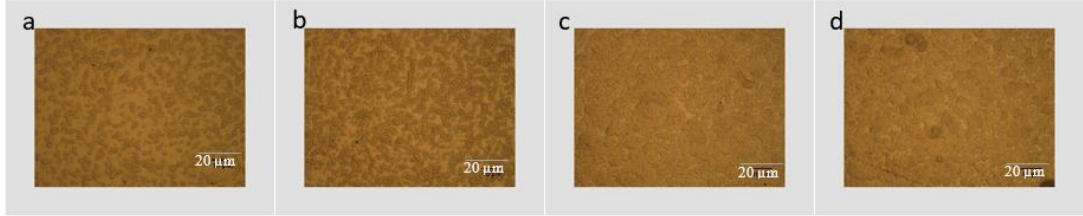
Şekil 4.16: Daldırmalı kaplama işlemi sonrasında altın yüzeyinin iki farklı bölgesinden alınmış optik mikroskop görüntüleri (x1000)

gerçekleştirildi. Yüzeyde hiç bir topaklanma gözlenmemesine rağmen, kaplama işlemi sekizinci kere tekrarlandığında dahi yüzeyin ancak %32,4 kaplanabildiği görüldü (Şekil 4.17.h).



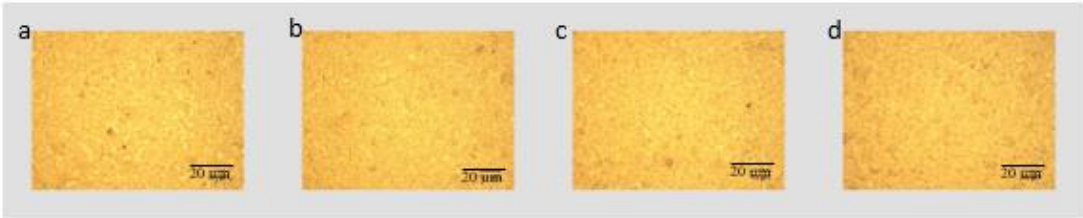
Şekil 4.17: Nanoparçacık derişimi 1 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü (e) beşinci (f) altıncı (g) yedinci (h) sekizinci kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü

Yüzeyde homojen ve tamamen kaplama elde edebilmek için küresel nanoparçacık içeren çözelti derişimi arttırıldı. 5 mg/ml derişimde nanoküre çözeltisi hazırlanarak kaplama işlemleri 4 basamakta gerçekleştirildi. En son basamakta yapılan kaplamanın optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, yüzeyde %70,1 kaplama elde edildiği gözlemlendi (Şekil 4.18.d).



Şekil 4.18: Nanoparçacık derişimi 5 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü

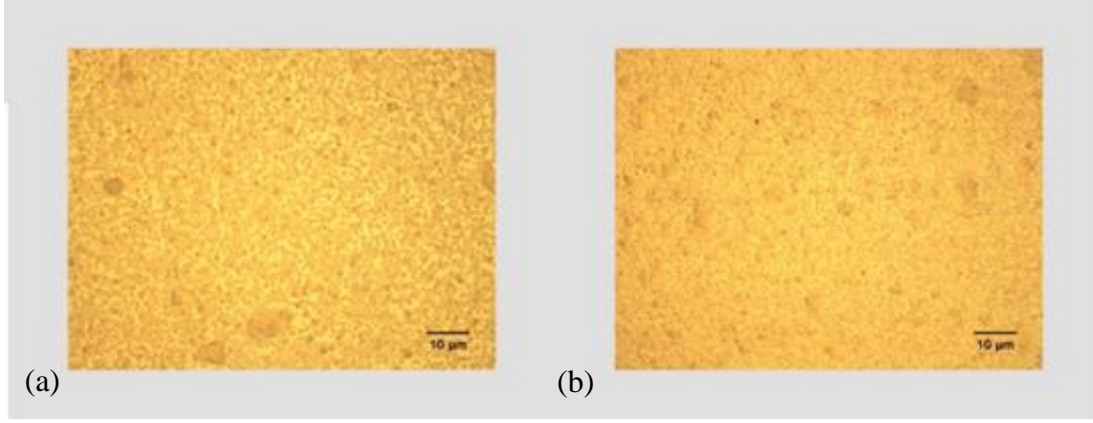
Küresel nanoparçacık derişimi arttırılmaya devam edilerek 10 mg/ml derişimde nanoküre çözeltisi ile kaplama yapıldıktan sonra optik mikroskop görüntüleri incelendi. Kaplanmanın en yüksek oranda gerçekleştiği görülmüş (%76,7), fakat derişik çözelti kullanmaktan dolayı yüzeyde topaklanmalar olduğu gözlemlendi. (Şekil Şekil 4.19).



Şekil 4.19: Nanoparçacık derişimi 10 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları (a) birinci (b) ikinci (c) üçüncü (d) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü

Nanokürelerin topaklanmalarını engelleyebilmek için derişim düşürülerek kaplama işlemleri 7,5 mg/ml derişiminde nanoparçacık içeren çözelti ile gerçekleştirildi. Şekil 4.20'de gösterilen 2. ve 4. kez kaplama işlemi sonrasında altın yüzeyinin optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde tamamen kaplanmanın en yüksek verimde (%97,6) ve topaklanma olmadan elde edildiği görülmektedir.

Altın yüzeyinin, kopolimer tabakası ile modifiye edilmiş küresel silika nanoparçacık kaplanması işleminin optimizasyonu sonucunda, 7.5 mg/ml derişiminde nanoküre içeren çözelti ile filtre yüzeyinde kaplama işlemi 4 kez uygulandığında ideal



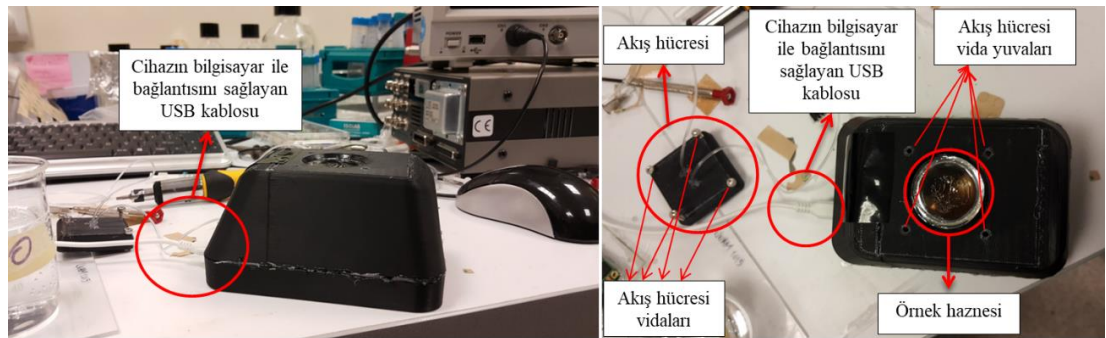
Şekil 4.20: Nanoparçacık derişimi 7,5 mg/ml olan çözelti içerisinde filtre yüzeyünde kaplama basamakları (a) ikinci (b) dördüncü kaplama sonrası optik mikroskop görüntüsü

kaplamanın gerçekleştirildiği görülerek YPR ölçümlerinde kullanılacak yüzeylerin bu prosedür ile hazırlanmasına karar verilmiştir.

5. MOLEKÜLER BSKILI SİLİKA NANOPARÇACIKLARIN YÜZEY PLAZMON REZONANS (YPR) PERFORMANSLARI

5.1 Nanoeye Yüzey Plazmon Rezonans Düzeneği İçin Ara Yüzey Tasarımı ve Uygulamaları

Geleneksel Yüzey Plazmon Rezonans cihazı ile ölçüm gerçekleştirilirken metal tabaka ile kaplanmış yüksek kırılma indisli cam alttaşlar kullanılmaktadır. Yaygın olarak altın ve gümüş metallerinin yüzey plazmonları yardımıyla ölçüm gerçekleştirilir. Bu yöntem özellikle sensör olarak tasarlanan sistemlerde gerçek zamanlı bağlanmaya ek olarak ve bağlanma kinetiği hakkında etiketleme aşamasına gerek duymaksızın takibe olanak sağladığından literatürde oldukça sık karşılaşılan bir yöntemdir [165–168]. Böylesine çok yönlü bir tekniğin taşınabilir boyutlarda ve yüksek kırılma indisli camlara kıyasla fazlasıyla uygun ücretlerle elde edilebilen BK7 cam ile çalışılabilir bir prototipinin üretilmesi, bilimsel çalışmanın maliyetini düşürme ve sürecini hızlandırma gibi avantajlar sağlaması kaçınılmazdır. Doç. Dr. Aykutlu Dana bu motivasyonla yola çıkmış ve Şekil 5.1’de gösterilen cihaz üretimini gerçekleştirmiştir. Grubumuz bu sürece, porototipte çalışabilen transdüser (dönüştürücü) arayüzeylerin tasarımı aşamasında katkı sağlamıştır.



Şekil 5.1: Nanoeye YPR alet düzeni

BK7 nin kırılma indeksi çok düşük ($n= 1.51$, 740nm) olduğu için YPR dönüştürücü tasarımında radikal değişikliklere gidilmesi gerekmiştir. Yapmış olduğumuz simülasyonlara göre, plazmonların uyarılması için gerekli olan tam yansıma (total

internal reflection, TIR) koşullarının oluşturulabilmesi için altın-hava arayüzdeki dielektrik tabakanın (fonksiyonel polimer veya nanoküre) boyutlarının düşürülmesi ve daha düşük kırılma indisli bir ortamda (medium) dağıtılması gerekmektedir. Bunun için ya i) daha ince polimer film tabakalarının kullanılması veya ii) moleküler baskılı nanokürelerin çapları 100 nm den 20-30 nm kadar düşürülmüş ve en az bir tek-tabakalı film elde edilecek şekilde altın alttaşlar üzerinde yerleştirilmesi gerekmektedir. İlk aşamada altın alttaş üzerine ince film kaplama yöntemi denenmiştir.

5.1.1 Nanoeye yüzey plazmon rezonans cihazı için performans katsayısı ölçümü

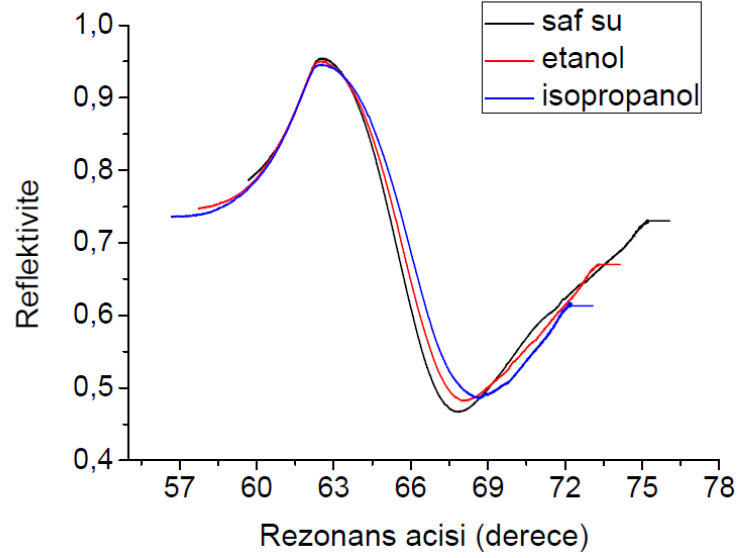
Bir YPR sensörü sistemdeki kırılma indisi değişikliklerini anlık olarak tanıyabilmektedir. Kırılma indisine bağlı olarak gerçekleşen spektral kaymalar sensör hassasiyeti hakkında bilgi verir ve tasarım sırasında belirlenen ilk hedeflerden birisi yüksek hassasiyete sahip üretim gerçekleştirebilmektir [169]. Bir diğer önemli nokta ise rezonans bandının genişliğidir. Hassasiyetin yarı-doruk genişliğine oranı Performans Katsayısı (PK) olarak tanımlanır [170].

$$PK = \frac{\Delta\theta}{\Delta n} \left(\frac{1}{\tau} \right) \quad 5.1$$

Bu denklemde τ yarı-doruk genişliğini ifade ederken, $\Delta\theta$ sisteme eklenen çözücünün meydana getirdiği rezonans açısı kaymasını Δn ise kırılma indisi değişimini temsil etmektedir [102]. Performans katsayısı, sistemin hassasiyetinin artması ve yarı-doruk genişliğinin azalması ile arttırılabilir. Yüksek performans katsayısı sensör sisteminin en ufak kırılma indisi değişimlerini tespit edebilmesi açısından kritiktir [169]. Bu sebeple Doç. Dr. Aykutlu Dana tarafından geliştirilen Nanoeye YPR sisteminin işleyişini test edebilmek amacıyla, yüzeyinde herhangi bir modifikasyon gerçekleştirilmemiş saf altın tabakasının kırılma indisi birbirine yakın 3 çözücü varlığında PK sayısı hesaplanmıştır (Şekil 5.2).

Altın tabakası biriktirilmiş BK7 cam üzerinden öncelikle 5 dakika boyunca saf su ($n=1,333$) geçirilirdikten sonra YPR eğrileri kaydedildi. Süre sonunda yüzeyde etanol ($n=1,361$) akışı sağlanarak YPR eğrisi elde edildi ve karşılaştırılma yapıldığında rezonans açısının $0,16^\circ$ kaydığı gözlemlendi. 5 dakika sonrasında akış hücresinden aynı miktar süre boyunca izopropanol ($n=1,378$) geçirildiğinde kaydedilen YPR eğrisinde

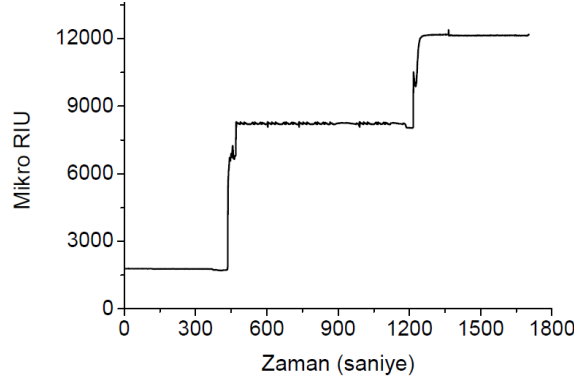
isopropanolün de ek olarak $0,57^\circ$ kaymaya sebep olduğu gözlemlendi (Şekil 5.2). Nanoeye cihazı ile yapılan bu ölçümlerde, saf su-etanol geçişi için PK 1,26; etanol-isopropanol geçişi için ise 9,18 olarak hesaplandı.



Şekil 5.2: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin YPR eğrileri

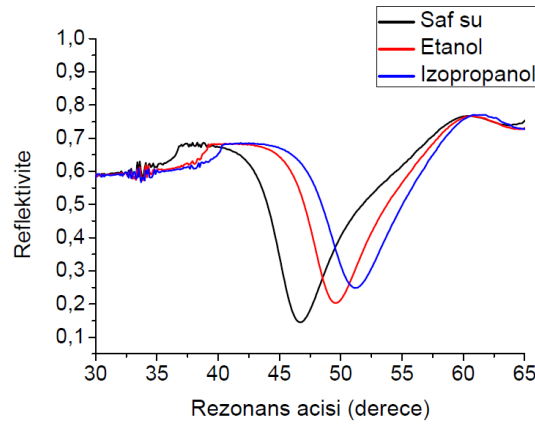
Naneye YPR cihazı pahalı yüksek kırılma indisli camlar yerine uygun fiyatlı BK7 cam ile ölçüm alınabilmesine olanak sağlarken, bir avantajı da durgun ve kinetik ölçümlerin arayüzde aynı anda takip edilebilmesidir. Bütün çözeltilerin akış hücresinden geçirilmesi boyunca kinetik ölçüm verileri kaydedildi ve ortamda meydana gelen kırılma indisi değişimlerinin Şekil 5.3'te gösterildi. Akış hücresinden 5 dakika boyunca saf su geçişi sağlandıktan sonra ortama etanol eklendi ve 6,56 mRIU değişim elde edildi. Tekrar 5 dakika etanol akışından sonra yüzeyden isopropanol geçirildi ve 3,89 mRIU miktarında artış gözlemlendi. Bu değişimler kısa süreli bir zaman diliminde meydana geldi ve artış miktarlarının eklenen çözücülerin kırılma indisleriyle doğru orantılı olarak gerçekleşti.

Elde edilen performans katsayılarını karşılaştırabilmek amacıyla yüzeyinde herhangi bir modifikasyon gerçekleştirilmemiş ve LaSFN9 yüksek kırılma indisli cama kaplanmış saf altın PK sayısı tabakasının aynı 3 çözücü varlığında hesaplandı. Akış hücresine ilk olarak saf su doldurulmuş ve YPR eğrisi kaydedildi. Ardından etanol



Şekil 5.3: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin kinetik ölçüm eğrisi

girişi sağlanmış ve YPR ölçümü tekrarlandı. Aynı işlem son olarak isopropanol için uygulandı. Üç çözücü için elde edilen YPR eğrileri Klasik YPR cihazı ile yapılan bu ölçümlerde, saf su-etanol geçişi için PK 19,11; etanol-isopropanol geçişi için ise 16,26 olarak hesaplandı. Klasik YPR düzeneği yüksek kırılma indisli cam bulunduğundan spektral çözünmenin daha ayrıntı gerçekleşmesini sağlamaktadır. Nanoeye YPR cihazında BK7 cam kullanılmasına karşın PK değeri etanol-isopropanol geçişi için 9,18 olarak elde edildi ve sahip olduğu boyutlar ile maaliyeti göz önünde bulundurulduğunda bilimsel çalışmalarda kullanılabilecek bir sistem geliştirildiği görüldü.



Şekil 5.4: Saf su, etanol ve isopropanol çözücülerinin Geleneksel YPR ile alınan eğrileri

5.1.2 Nanoeye yüzey plazmon rezonans cihazı ile sistamin moleküllerinin altın yüzeyinde kendiliğinden oluşan tekkatman meydana getirmesi

Altın yüzeyi elektrokimyasal [77], gravimetrik [83] ve optik [98] sistemlerde oldukça yaygın kullanılan bir metaldir. Bu sebeple yüzeyin farklı tür ve kompleks yapıdaki moleküller ile fonksiyonlandırılabilmesi önemlidir. Literatürde bu amaçla kullanılan

farklı moleküllere rastlanmaktadır. 2-aminoetan tiyolhidroklorür ve 6-aminohekzan tiyolhidroklorür [171], 1,6-hekzan-ditiyol [172] ve 11-merkaptol-1-undekanol [167] bunlara örnek olarak verilebilir. Birleştirme tabakası olarak karşımıza en sık çıkan molekül ise kısa karbon zinciri içermesi sebebiyle ince film üretiminde avantaj sağlayan sistamindir. Şekil 5.5'te gösterildiği gibi bir ucu altın metali ile kuvvetli bağ kurarak kendiliğinden oluşan tek katman meydana getirebilen kükürt atomu içerirken, karbon zincirinin diğer ucunda ise ileri fonksiyondırma basamaklarına olanak sağlayabilen amin grubu bulunmaktadır. Bu kaplama sonrasında yüzeye kuantum parçacık [173], DNA [174] ve amino asit [102] sabitlenmesinin gerçekleştirildiği çeşitli çalışmalar mevcuttur.

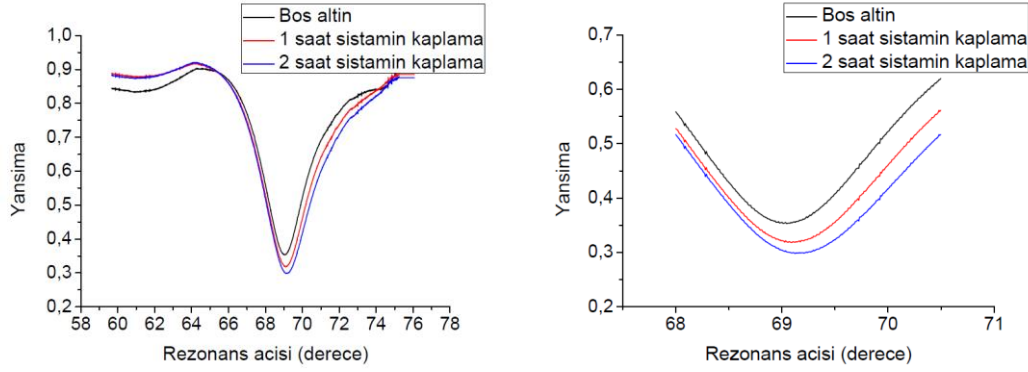


Şekil 5.5: Sistamin molekülünün kimyasal yapısı

Altın yüzeyinde sistamin molekülleriyle kendiliğinden oluşan tekkatman elde edebilmek için 50 mM derişiminde etanol içinde sistamin çözeltisi hazırlandı. İlk olarak saf altın metali kaplı BK7 cam yüzeyi üzerinden etanol geçirildi. Ardından hazırlanmış sistamin çözeltisi ortama 50 µL/dak hızında 1 ve 2 saat eklendi. Bu süreçte elde edilen YPR eğrisi ve rezonans açılarının yakınlştırıldığı Şekil 5.6'da gösterilmektedir. Altın yüzeyinde herhangi bir kaplama yapılmadan önce rezonans açısının 69,06°'de elde edildiği görüldü. 1 saat boyunca sistamin çözeltisinin yüzeyden geçirilmesinin ardından rezonans açısı 69,11°'de, 2 saat boyunca sistamin çözeltisinin yüzeyden geçirilmesinin ardından ise 69,16°'de gözlendi. Altın yüzeyinin sistamin çözeltisi ile etkileşime girdiği sürenin artmasıyla elde edilen tabaka kalınlığı da artış gösterdi ve rezonans açısında kayda değer bir kayma görüldü.

5.1.3 Polimer film kaplı yüzeylerin karakterizasyonu

İleri modifikasyona olanak sağlayan sistamin molekülleriyle kaplanmış altın tabakası elde edildikten sonra yüzeyde MAA ve EDMA monomerlerinin AIBN başlatıcısıyla ısıl polimerizasyon prosedürü optimize edildi. Optik profilometre cihazı ile ölçülen kalınlıklar aşağıdaki çizelgede verildi. Örneklerin isimlendirilmesinde öncelikle



Şekil 5.6: Sistamin çözeltisi (50 mM) ile saf altın yüzeyinde kendiliğinden oluşan tekkatman meydana getirmesinin YPR eğrileri ile takibi

uygulanan makalenin basıldığı dergi adı kısaltması (ACS/RSC) ([123]/[124]), kaplama yöntemi (SC/DC) ve kaplama süresi kullanıldı. Bu çizelgede, literatürde kullanılan monomer oranlarına uyularak hazırlanan örneklerin sonuçları listelendi.

Çizelge 5: BK7 cam üzerine kaplanan film kalınlıkları

Örnek Adı	Film kalınlığı (nm)	Örnek Adı	Film kalınlığı (nm)
ACS-SC-1'	69	RSC-SC-1'	112
ACS -SC-3'	64	RSC -SC-3'	120
ACS -SC-5'	109	RSC -SC-5'	94
ACS -DC-1'	72	RSC -DC-1'	58
ACS -DC-2'	142	RSC -DC-2'	77
ACS -DC-3'	163	RSC -DC-3'	124

Nanoeye YPR cihazının tarama açısı klasik YPR cihazına göre daha dar bir aralıkta olduğundan, yapmış olduğumuz teorik ön hesaplamalar sonucunda 20-30 nm kalınlığında filmlerin üretimine ihtiyaç duyulmaktadır. Daldırarak kaplama ile üretilen örneklerde, kaplama süresi arttıkça daha kalın filmler oluştuğu gözlemlendi. Bu sebeple yeni üretilen örnekler daldırarak kaplama yöntemiyle elde edildi. Daha düşük derişimde daha ince film elde edilebileceği ihtimali düşünülerek Ye ve ark. çalışması takip edildi [123]. Bu kriterleri uygulayabilmek adına iki farklı grup örnek üretildi. Başlangıçta monomer derişimleri ilk üretim ile aynı tutuldu ve kaplama süreleri 20", 40" ve 60" olarak belirlendi. Ardından monomer derişimleri aynı hacim çözücü içinde yarıya düşürülerek kaplama süreleri ilk üretim ile aynı tutuldu (1', 2' ve 3'). Monomer derişimi yarıya düşürülen örneklerin isimlendirilmesine 0,5 ifadesi eklendi. Optik profilometre ile ölçülen kalınlıklar Çizelge 6'da listelenmektedir.

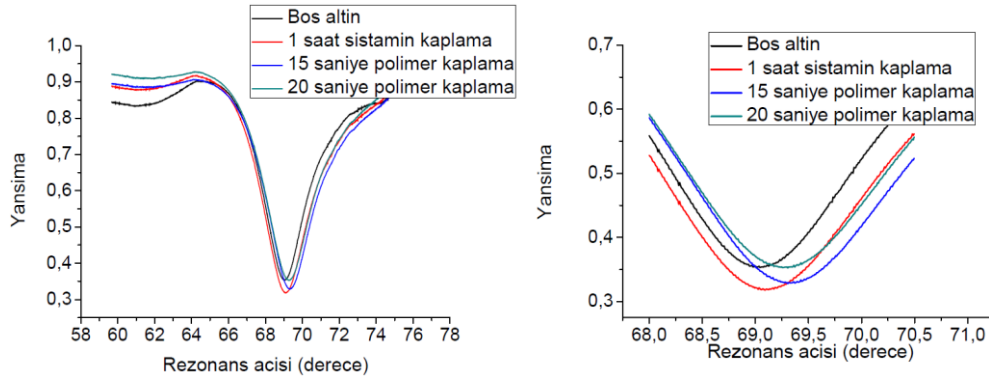
Çizelge 6: Prosedür optimizasyonu ardından elde edilen film kalınlıkları

Örnek Adı	Film kalınlığı (nm)	Örnek Adı	Film kalınlığı (nm)
ACS-DC-20"	24	ACS-DC-0.5-1'	40
ACS -DC-40"	31	ACS -DC-0.5-2'	95
ACS -DC-60"	53	ACS-DC-0.5-3'	96

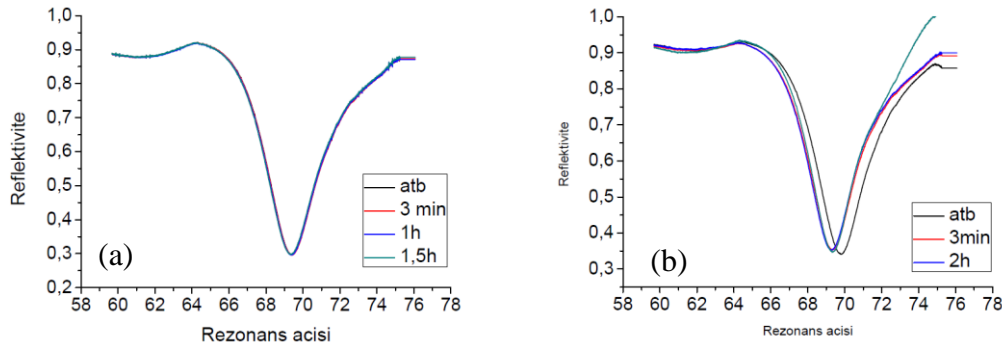
Bu verilere göre altın metali üzerine sistamin tabakası ile kaplanmış lamel, 0.2 mmol MAA, 0.1 mmol EDMA ve 0.02 mmol AIBN içeren 20 ml CHCl_3 çözeltisinde 20" bekletildikten sonra 60 °C'de 24 saat vakum fırınında termal polimerizasyona tabi tutulduğunda, minyatür yüzey plazmon rezonans spektrometresinde ölçüm alınabilecek özelliklere sahip olduğu gözlemlendi.

Altın kaplı camlar 1 saat boyunca 50 mM sistamin çözeltisi içerisinde bekletildikten sonra azot gazı altında monomer çözeltisine 15 ve 20 saniye sürelerde daldırıldı. Vakum ortamında ısıl polimerizasyon gerçekleştirildikten sonra rezonans eğrileri incelendi (Şekil 5.7). Yüzeyde gerçekleştirilen polimerizasyonun tabaka kalınlığını arttırdığı rezonans açısında 0,111 ve 0,171° kayma belirlenmesi ile gözlemlendi.

Üretilen polimer film tabakasının etanol varlığında şişme davranışını test edebilmek amacıyla yüzeyler sırasıyla 15 ve 16 saat boyunca çözücüye maruz bırakıldı. Ortama etanol çözücüsünün ilk eklendiği anda, 3 dakika, 1 ve 2 saat, 15 ve 16 saat sonrasında 15 ve 20" süre ile kaplanan yüzeylerden alınan rezonans eğrileri Şekil 5.8'de gösterilmektedir. Tüm eğriler örtüşmektedir. Yalnızca 20" saniye sürede kaplanan örneğin başlangıç ölçümü yüksek rezonans açısına sahiptir, bu ölçüm Nanoeye cihazında meydana gelen donanımsal bir sorun sebebiyle farklılık göstermektedir.



Şekil 5.7: Sistamin tabakası ve ince kopolimer film kaplı altın yüzeylerin YPR eğrileri



Şekil 5.8: İnce kopolimer filmlerin etanol içerisinde bekletilmesi ile elde edilen YPR eğrileri (a) 15 ve (b) 20” kaplama süresi

Cihazın uygun fiyatlı olmasını sağlayan etkenlerden biri malzemesinin düşük fiyatlı polimer içermesinden kaynaklıdır. Bu kinetik ölçümler gerçekleştirilirken kimyasala direnci düşük olan bu malzemede şişme meydana geldiğinden düzeneğin bütünlüğü devam ettirilememiştir. Çalışmada planlanan moleküler baskılama aşaması bu sebeple gerçekleştirilememiştir.

5.2 Geleneksel Yüzey Plazmon Rezonans Düzeneğinin Moleküler Baskılı Nanoküreler İçin Ara Yüzey Tasarımı ve Biosensör Performansının İncelenmesi

5.2.1 Altın yüzeyini mbnk ile kaplama yönteminin belirlenmesi

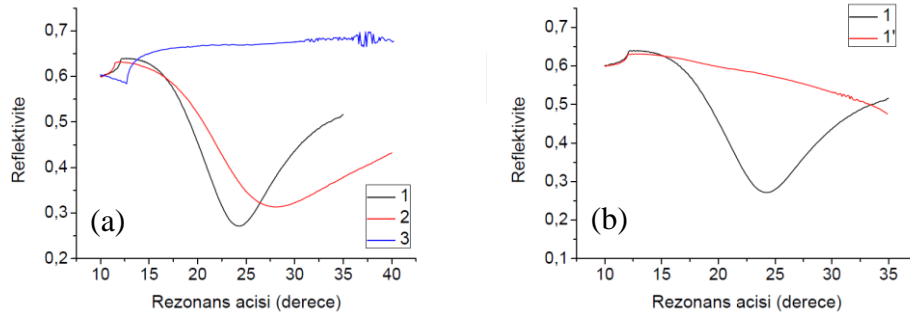
Moleküler baskılanmış nanokürelerin (MBNK) üretimi ve altın tabakası kaplı cam yüzeyine sabitlenmesi Bölüm 4’te açıklanmıştır. Bu bölümde tasarlanan sensör yüzeylerin YPR Spektrometresi ile performans takibi gerçekleştirildi. Filtre yüzeyinde kaplama yöntemi ile üretim sırasında 4 kez artarda uygulama gerçekleştirildiğinden süreç uzun zaman gerektirdiğinden daha kısa sürede üretim hedeflenerek iki farklı yöntem denendi ve yüzey homojenliği YPR ile incelendi.

Sensörün hazırlama süresini kısaltmak amacıyla ilk olarak döndürerek kaplama işlemi gerçekleştirildi. Kaplama basamağından önce altın yüzeyi aseton çözücüsü içerisinde 10 dakika sonike edildi. Etanol ve saf su ile yıkandıktan sonra 40°C sıcaklıkta vakum altında kurutularak işleme hazırlandı. 2 mg/ml derişiminde MBNK içeren çözeltiden 40 µL altın metali üzerine damlatıldıktan sonra 5 saniye 200 rpm döndürme uygulandı. Ardından döndürme hızı 4000 rpm’e yükselttilerek kaplama işlemine 20 saniye

boyunca devam edildi. Kaplama sonrasında 40°C sıcaklıkta 6 saat boyunca ısı işlem uygulanan yüzey YPR ile incelendi.

Üretilen örneğin üç farklı noktasından elde edilen YPR spektrumları Şekil 5.9.a’da gösterilmektedir. 1 ve 2 numaralı taramalar incelendiğinde rezonans açısı değerleri ve yarı-doruk genişliği oldukça farklı gözlemlendi. 3 numaralı taramada ise plazmon rezonans koşulu sağlanamadı. Bu sebeple yüzeydeki kaplamanın bazı bölgelerde rezonans gözlenmesini engelleyebilecek kadar kalın ve heterojen yapıda olduğuna karar verildi. 1 numaralı noktadan farklı zamanlarda elde edilen rezonans eğrileri karşılaştırıldığında ise nanoparçacıkların yüzeyde sabitlenemediği sonucuna varıldı (Şekil 5.9.b).

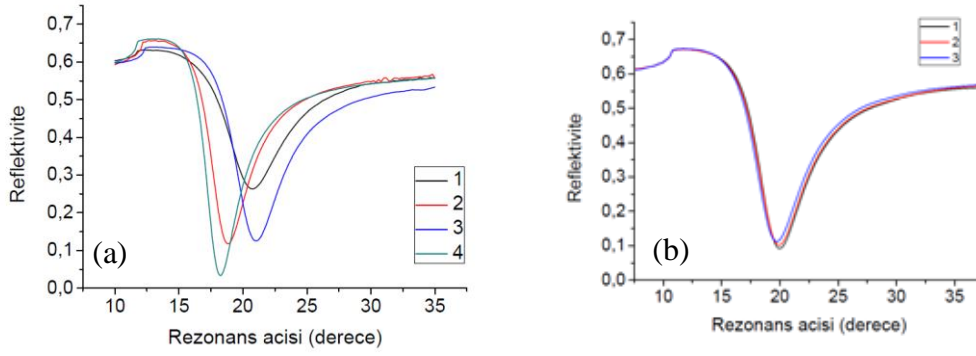
Döndürerek kaplama ile hazırlanan sensör yüzeyinin homojenliği ve kararlılığının yeterli olmadığı görüldüğünde daldırarak kaplama yöntemi uygulandı. Altın yüzeyi, döndürerek kaplama işlemi takip edilen basamaklar izlenerek işleme hazırlandı.



Şekil 5.9: Döndürerek kaplama işlemi ile hazırlanmış örneğin (a) üç farklı noktadan ve (b) tek bir noktadan farklı zamanlarda elde edilen YPR taramaları

2 mg/ml derişiminde MBNK içeren çözelti 1 saat boyunca sonike edildikten sonra içine altın yüzeyi yerleştirilerek gece boyu bekletildi. Süre sonunda sırasıyla saf su ve etanol ile 3'er kere yıkanan yüzeyler 40°C sıcaklıkta 5 saat boyunca ısı işleme maruz bırakıldı. Aynı çözücülerle tekrar yıkama işlemi gerçekleştirildi ve 1 saat daha ısı işleme devam edildi. Üretilen yüzeyler YPR ile incelendi.

Daldırarak kaplama ile hazırlanan 4 farklı yüzeye ait plazmon rezonans piki, 3 derecelik bir aralıkta elde edildi (Şekil 5.10.a). Aynı örneğin 3 farklı noktasından elde edilen YPR eğrileri ile birlikte incelendiğinde yüzeyin homojen bir şekilde retilebildiği görüldü. Bu sebeple çalışma boyunca altın yüzeylerinin MBNK ile modifiye edilmesi daldırarak kaplama işlemi ile gerçekleştirildi.



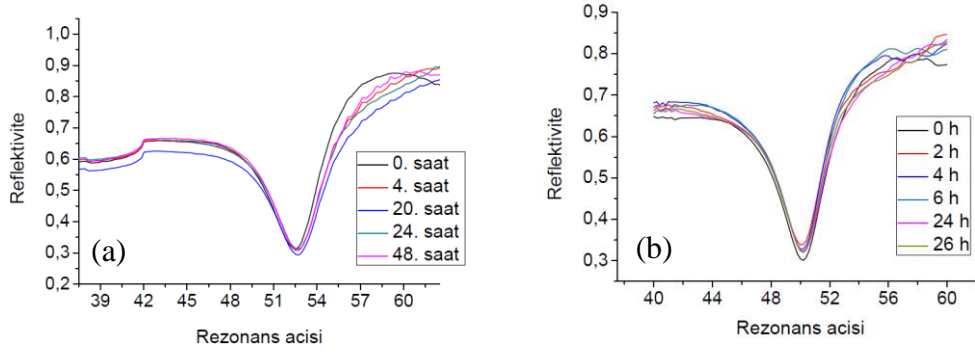
Şekil 5.10: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış (a) beş farklı yüzeyin ve (b) tek bir yüzeyin farklı noktalarından elde edilen YPR taramaları

5.2.2 Çapraz bağlayıcı monomer oranının optimizasyonu

Metakrilik asit ve etilen glikol metakrilat kopolimerizasyonunda monomerler sırasıyla fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı olarak isimlendirilir. Bu iki monomerin polimerizasyon çözeltisindeki oranı, üretilen polimerin yapısındaki çapraz bağlanma yoğunluğunu ve kavitelelerin kararlılığını belirler. MBP üretiminde çapraz bağlanma önemli bir rol oynar. Analit molekülün baskılamış kavitelere tutunması çözelti ortamında gerçekleşir. Bu sıvı ortamda baskılamanın gerçekleştirildiği polimerin kararlı olması gerekir. Çözücü sebebiyle polimer tabakasının şişme göstermesi durumunda kavitelelerin geometrisi bozulacağından sensör performansı olumsuz etkilenir.

Fonksiyonel monomer: çapraz bağlayıcı monomer oranı literatürde oldukça yaygın olarak 1:5 tercih edildiğinden, ilk aşamada bu oran kullanılmıştır. Bağlanma testleri öncesinde sentezlenen polimere şişme testi uygulandı. Etanol çözücüsü içerisinde bekletilen sensör yüzeyi 48 saat boyunca YPR ölçümleri alınarak takip edildi. Başlangıçta $\theta_r=52,50^\circ$ rezonans açısında elde edilen yüzey plazmon pikininin 20. saatten itibaren $52,65^\circ$ açısında sabit kaldığı görüldü (Şekil 5.11). Toplamda meydana gelen $1,5^\circ$ rezonans açısı kayması polimer tabakasının akış çözeltisinden etkilenerek şişmesinden kaynaklandığı öngörüldü.

Sensörün analit moleküle vereceği cevap ile polimer-çözücü etkileşiminin karışmasını engellemek amacıyla fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı oranı 1:10 olarak sabitlenmiştir. Bu değişimdeki amaç kopolimer tabakasında daha fazla çapraz bağlanma noktası oluşturarak akış çözeltisi olarak kullanılan etanolün şişme etkisini azaltmaktır. Bu



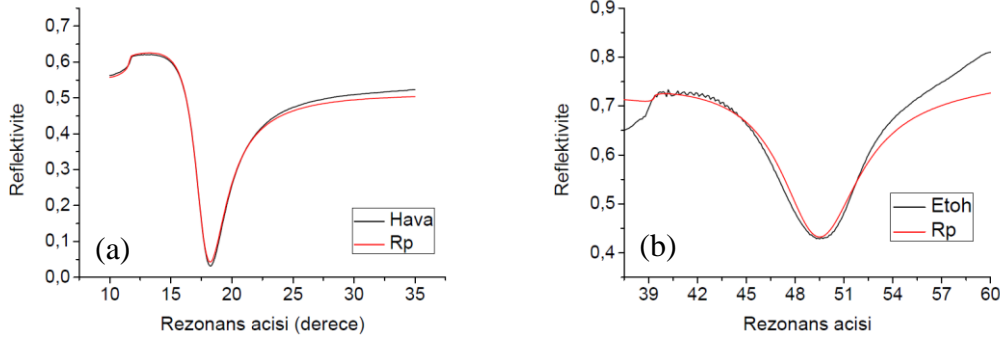
Şekil 5.11: (a) 1:5 ve (b) 1:10 fonksiyonel monomer: çapraz bağlayıcı oranında hazırlanan kopolimer tabakası kaplanmış nanoparçacıkların altın yüzeyinde sabitlenmesinin ardından etanol içerisinde bekletilmesi süresince elde edilen YPR eğrileri

değişim sonrasında sistem 28 saat boyunca izlendi ve rezonans açısındaki toplam değişim $0,05^\circ$ olarak gözlemlendi. Hedef molekül tutunmasının daha yüksek bir artışa sebep olacağı öngörüldüğünden bu çapraz bağlayıcı oranı ile deneylere devam edilmesine karar verildi.

5.2.3 Kinetik ölçüm koşullarının optimize edilmesi

MBNK kullanılarak hazırlanan sensör sisteminin performansı, bağlanma olayından önce ve sonrasında çözücü içerisinde gerçekleştirilen YPR ölçümleri ile rezonans açısının değişimi ile test edildi. Aynı zamanda bağlanma, kinetik ölçüm yardımıyla yüzeye bağlanan analit molekülünün altın ve dielektrik ara yüzeyinde meydana getirdiği kırılma indisi değişimi takip edilerek izlendi. Çözücü içerisinde gerçekleştirilen bu ölçümler sırasında analit molekülünün homojen bir şekilde ve tamamen çözülmüş durumda bulunması önemli bir rol oynar. Bu sebeple ilk olarak, organik moleküller için iyi bir çözücü olarak bilinen etanol tercih edildi.

0,05 mM L-BFA etanol çözücüsü içerisinde hazırlandıktan sonra kinetik analiz gerçekleştirildi. Önce, L-BFA'nin nanokürelerlere bağlandığı gözlemlendi ancak etanol ile yıkama işleminden sonra reflektivite değerinde tekrar bir düşüş görüldü. L-BFA'nın kalıcı bir afinite göstermediği sadece yüzeye fizisorp ettiği tespit edilmiştir. Bunun ana sebebinin etanol içerisinde L-BFA'nın kısmen çözülmesi ve yerel olarak toplanmış L-BFA moleküllerinin altın yüzeyine seçici olmayan adsorpsiyonu gösterilebilir. Bu verilere dayanarak etanolün şablon molekülü için uygun bir çözücü olmadığına kanaat getirildi ve aynı kopolimer ile şablon molekülünün çalışıldığı farklı

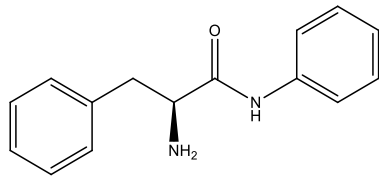


Şekil 5.12: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin (a) hava ve (b) etanol ortamında deneysel ve hesaplanmış YPR eğrileri (Siyah çizgi deneysel ve kırmızı çizgi teorik hesaplamala sonucu elde edilen eğrilerdir).

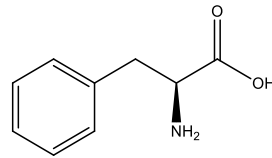
Çizelge 7: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin hava ortamında hesaplanmış YPR eğri parametreleri

Çizelge 8: Daldırarak kaplama işlemi uygulanmış yüzeyin etanol ortamında hesaplanmış YPR eğri parametreleri

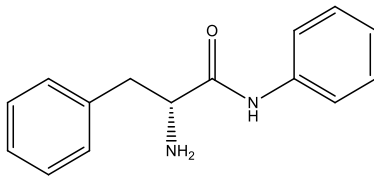
Tabaka	Kalınlık (nm)	ϵ' (gerçek)	ϵ'' (sanal)	Tabaka	Kalınlık (nm)	ϵ' (gerçek)	ϵ'' (sanal)
<i>LaSFN9</i>	0	4,160	0	<i>LaSFN9</i>	0	4,160	0
<i>Krom</i>	1,63	-7,551	23,687	<i>Krom</i>	1,63	-7,551	23,687
<i>Altın</i>	46,56	-11,030	0,993	<i>Altın</i>	46,56	-11,030	0,993
<i>Kaplama</i>	413,55	1,0641	0,0138	<i>Kaplama</i>	413,55	1,0641	0,0138
<i>Ortam</i>	0	1	0	<i>Ortam</i>	0	1	0



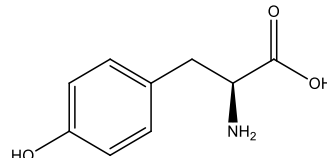
L-fenilalanin anilid



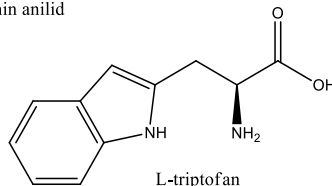
L-fenilalanin



D-fenilalanin anilid

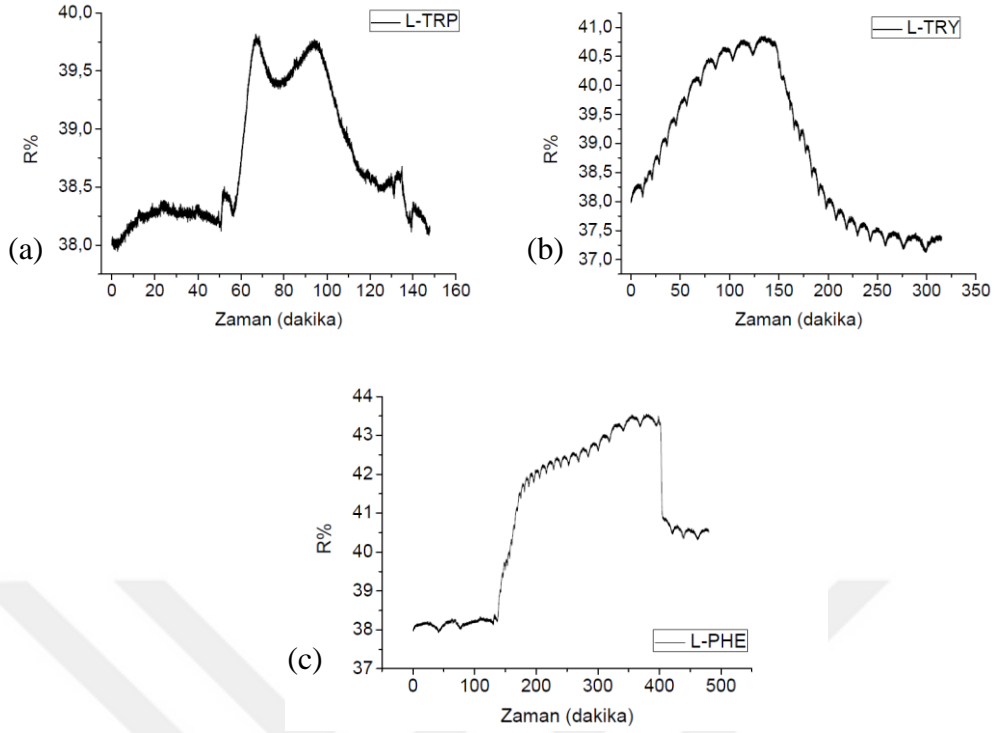


L-tirosin

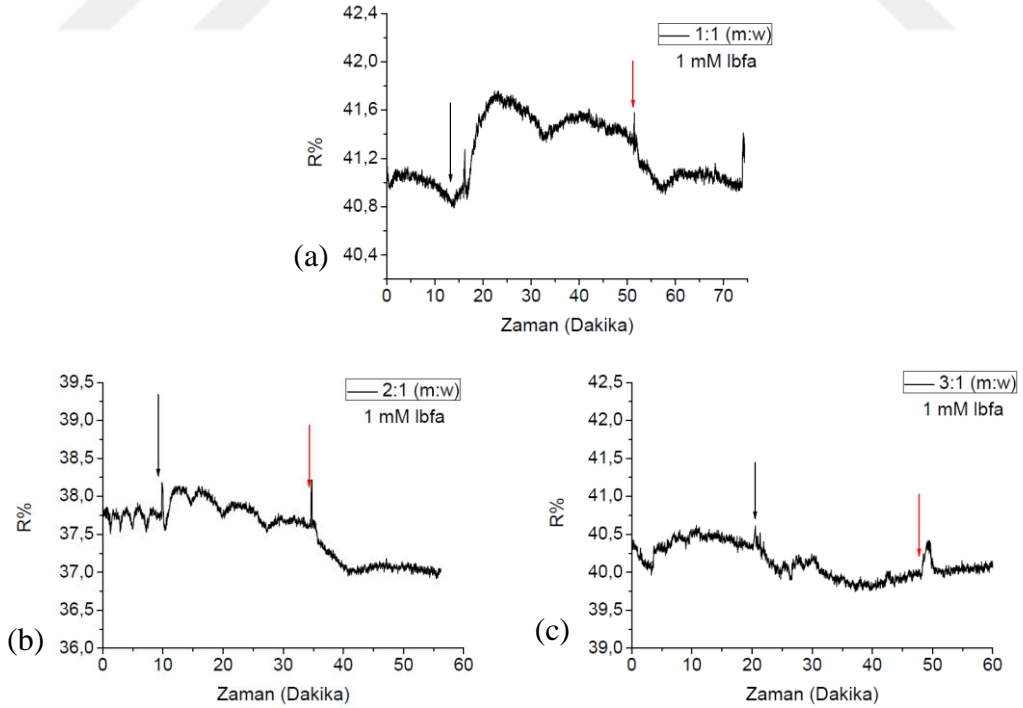


L-triptofan

Şekil 5.13: Sensörün seçiciliğini test etmek amacıyla kullanılan analog ve hedef (L-BFA) moleküllerin kimyasal yapıları



Şekil 5.14: 50 mM derişimde (a) Boc-Triptofan (B-Trp), (b) Boc-Tirosin (B-Try) ve (c) Boc- Fenilalanin moleküllerinin MBNK sistemine $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ ortamında tutunma kinetiği



Şekil 5.15: Farklı metanol:su oranlarında 1 mM L-BFA tutunmasının kinetik ölçüm sonuçları (a) 1:1, (b) 2:1 ve (c) 3:1.

çalışmalar incelendi. Tovar ve arkadaşları şablon molekülünün çözünürlüğünü arttırmak için 1:1 oranında metanol-su karışımı kullanmış, aynı zamanda su içinde 40 mM derişimde NaH_2PO_4 çözerek metanol ile birleştirmeden önce NaOH ile nötrleştirmişlerdir[154]. Bu sebeple aynı yöntemle çözücü çifti hazırlandı ve şişme testleri ile kinetik ölçüm tekrar edildi.

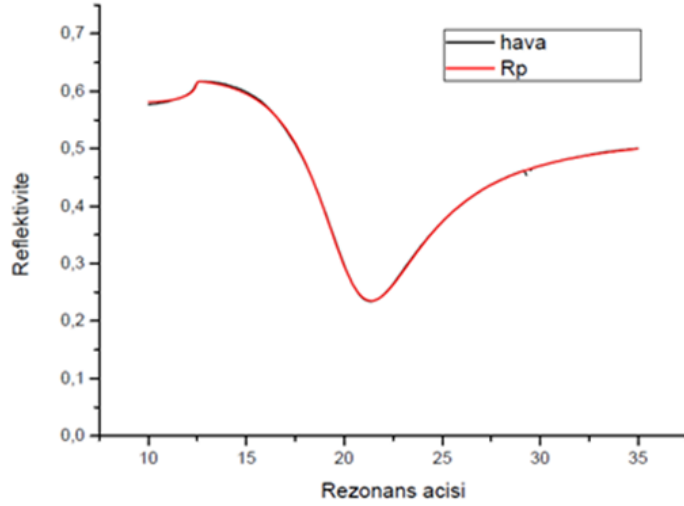
Tekrarlanan kinetik ölçüm sırasında, tayini net gözlemleyebilmek amacıyla analog molekül (Şekil 5.13) derişimleri 50 mM olarak hazırlandı. 3 saat çözücü geçirildikten sonra 50 mM Boc-Triptofan (L-TRP) akış hücresine 1 saat 20 dakika boyunca gönderildi, sonrasında çözücü çifti ile yarım saat boyunca yıkanan yüzeye 50 mM Boc-Tirosin (L-TRY) gönderildi. Her iki analog molekülde yüzey ile herhangi bir afinite tespit edilmedi. Daha sonra, transdüser yüzeyi tekrar yıkanarak 50 mM Boc-Fenilalanin (L-PHE) YPR hücresine gönderildi. Bağlanma eğrisi yaklaşık 4 saat sonra doyuma ulaşmıştır. Kinetik ölçüm sırasında ölçülen yaklaşık 0,51'lik $\Delta\theta$ değişimi ve %2,26 lık ΔR değişimi L-PFA'nın başarılı bir şekilde kavitelere tutunduğu göstermiştir. Son olarak yüzey 2 saat boyunca tekrar çözücü çifti ile yıkandı. Akış hücresine gönderilen analog molekülün şablon molekülüne benzerliği arttıkça tutunmanın arttığı görüldü (Şekil 5.14).

Yüzeye molekül gönderilmesinin öncesinde ve sonrasında sistemin kararlı duruma ulaşması uzun zaman aldığından su fazında bulunan NaH_2PO_4 tuzunun çözünürlüğü etkilediği öngörüldü. Bu sebeple farklı oranda metanol:su karışımları hazırlandı ve kinetik ölçümler 1 mM L-BFA bağlanması izlenerek tekrarlandı. Aynı derişimde analit bağlanması sırasında elde edilen kinetik ölçüm sonuçlarına göre, en yüksek reflektivite değişimi 1:1 oranında metanol:su çözücü çifti ortamında elde edildi (%0,2 ΔR). 2:1 ve 3:1 metanol:su oranlarında ise metanol miktarı artışının kavitelelerin stabilitesini olumsuz etkileyebilme ihtimalinden dolayı tutunmayı azaltarak reflektivite artışını negatif yönde saptırdığı gözlemlendi (Şekil 5.15).

5.3 MBNK YPR Spektrometresi ile Biyotarayıcı Uygulamaları

Çapraz bağlayıcı ve çözücü sistemine karar verildikten sonra uygun bulunan kaplama yöntemi ile baskılama işlemi uygulanmamış polimer kaplı nanoküreler (No-MBNK) kullanılarak kontrol örneği hazırlandı. Sistemin kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri

hesaplandı. Altın yüzeyi 263,74 nm kalınlığında nanoparçacık tabakası ile kaplanmış ve hava ortamında sistemin dielektrik sabitin gerçek kısmı 1,114 olarak elde edildi. Kritik açısı $12,5^\circ$ ve rezonans açısı 21° olarak görülen sistemin deneysel ve hesaplanan YRP eğrileri Şekil 5.16’da gösterilmektedir.



Şekil 5.16: Baskılanmamış polimer kaplı silika nanoparçacık (No-MBNK) içeren sensörün hava ortamında deneysel (siyah çizgi) ve hesaplanmış (kırmızı çizgi) YRP eğrileri

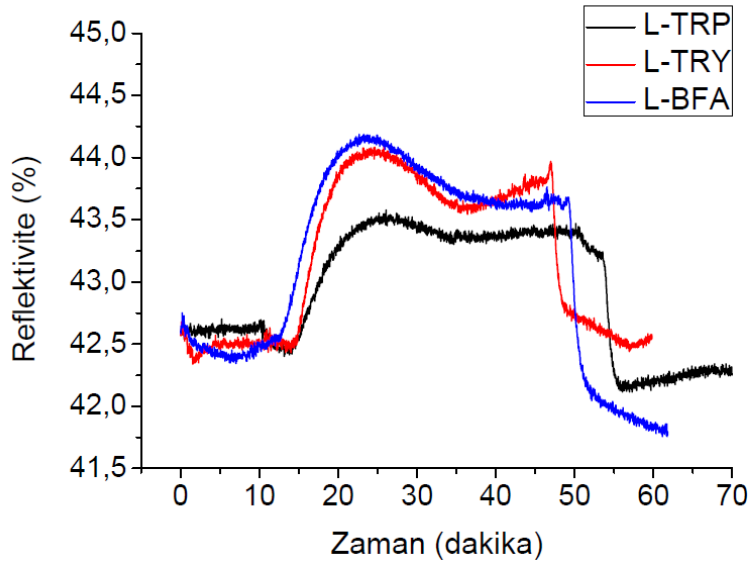
Çizelge 9: No-MBNK içeren sensör sisteminin içerdiği her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri

Tabaka	Kalınlık (nm)	ϵ' (gerçek)	ϵ'' (sanal)
<i>LaSFN9</i>	0	4,1001	0
<i>Krom</i>	1,32	-7,9077	23,4504
<i>Altın</i>	50,96	-10,0398	1,002
<i>Kaplama</i>	263,74	1,1138	0,0564
<i>Ortam</i>	0	1	0

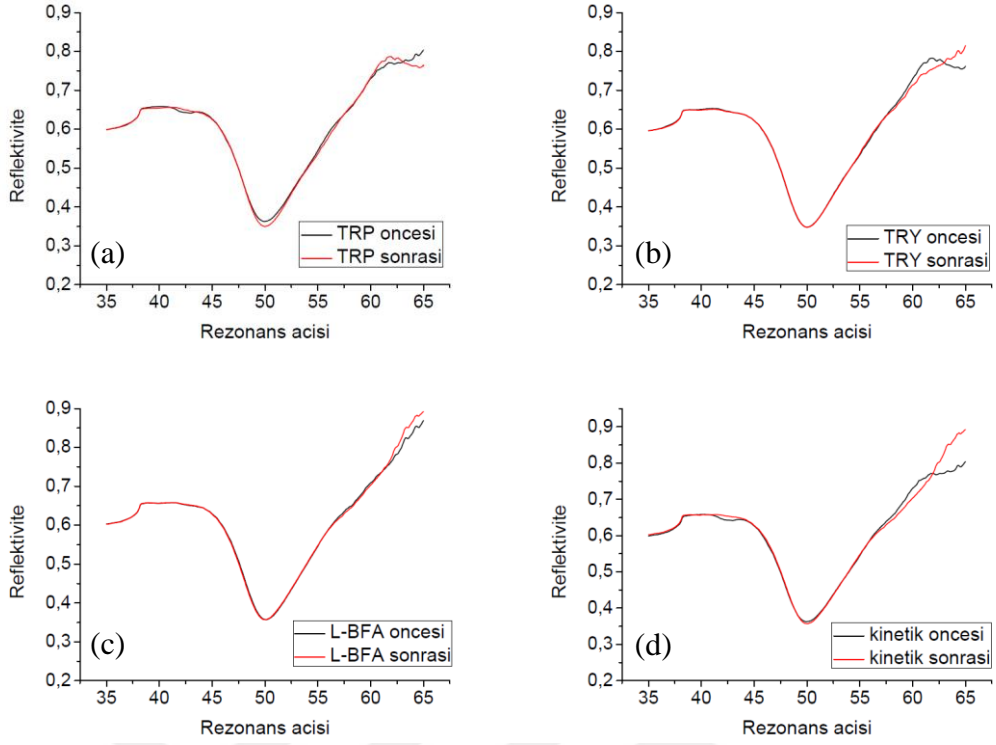
Baskılanmamış polimer (No-MBNK) yüzeyinden 2 mM derişiminde molekül içeren çözelti geçirildiğinde seçici olmayan bağlanmanın reflektiviteyi yaklaşık % 1,5 arasında arttırdığı görüldü. Aynı derişimde MBNK kaplı sensör yüzeyinde bu miktarda kırılma indisi değişimi daha önce saptanamadığından polimerizasyon sonrasında nanoparçacıkları metanol ile yıkama sayısının etkisi olduğu öngörüldü. UV Spektroskopisi ile şablon molekülünün uzaklaştırılma miktarı takip edilerek 3 kere yıkama uygulamanın yeterli olduğuna kanaat getirildi ve bu basamaktaki yıkama sayısı 5’ten 3’e düşürüldü.

Gerçekleştirilen kinetik ölçümde No-MBNK yüzeyinden 2 mM derişiminde analit ve analog moleküller geçirilerek seçici olmayan bağlanma olup olmadığı tespit edilmek istendi. İlk 10 dakika boyunca çözücü varlığında stabil hale gelen yüzeye molekül gönderilmesinin ardından 3 dakika içerisinde yüzeyde tutunma gözlenerek yaklaşık 10 dakika içerisinde yüzeyin doyuma ulaştığı elde edildi. Tutunan molekülleri uzaklaştırmak amacıyla yıkama çözücüsü kullanıldı ve yüzeyin başlangıç noktasına geri döndüğü tespit edildi. Bu veriler ışığında moleküllerin yüzeye adsorbe olduğu (fizisorpsiyon) ve yıkama sonrasında 2 dakikalık bir zaman dilimi içerisinde tekrar yüzeyden uzaklaştırılabildiği görüldü (Şekil 5.17).

Her bir molekülün izlendiği kinetik ölçüm öncesi ve sonrasında YPR eğrileri kaydedildi ve inceleme sonrasında rezonans açısında herhangi bir değişim görülmedi. Sistemden geçirilen moleküllerin baskılanmamış polimer yüzeyinde meydana getirdikleri değişimin, kinetik ölçüm ile tutarlı bir şekilde seçici olmayan bağlanmadan kaynaklandığı sonucuna varıldı. (Şekil 5.18).



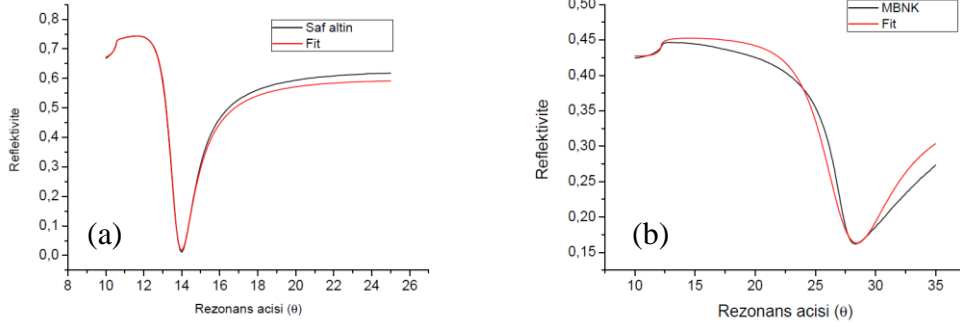
Şekil 5.17: 2 mM derişimde L-BFA ve benzer moleküllerin No-MBNK tutunma kinetiği



Şekil 5.18: No-MBNK'in çözelti ortamında her bir molekülün ve bütün kinetik ölçümün öncesi ve sonrasında elde edilen YPR eğrileri

MBNK ile hazırlanmış sensör sisteminin kaplama öncesi ve sonrasındaki kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri hesaplandı. Altın metali 48,73 nm kalınlığında kaplanmış ve rezonans açısı $14,02^\circ$ olarak elde edildi (Şekil 5.19.a). Altın yüzeyi 286,01 nm kalınlığında nanoparçacık tabakası ile kaplanmış ve hava ortamında sistemin dielektrik sabitin gerçek kısmı 1,2996 olarak elde edildi. Kritik açısı $12,33^\circ$ ve rezonans açısı $28,36^\circ$ olarak görülen sistemin deneysel ve hesaplanan YRP eğrileri Şekil 5.19.b'de gösterilmektedir. Altın metalinin MBNK ile kaplanmasının ardından rezonans açısında artma görüldü. Bu değişimin sebebi, yüzeye sabitlenen nanoparçacıkların sistemin kırılma indisini arttırmasıdır.

Gerçekleştirilen kinetik ölçümde MBNK yüzeyinden 2 mM derişiminde analit ve analog moleküller geçirilerek yalnızca baskılanmış LBFA molekülü için seçici bağlanma gözlemlendi. Yüzeye analit molekülün gönderilmesinden yaklaşık 90 dakika sonra yüzeyin doygunluğa ulaştığı görüldü. Doyum noktasının ardından yıkama işlemi gerçekleştirildi ve yüzeye tutunan LBFA moleküllerinin yalnızca bir kısmının uzaklaştırılabildiği gözlemlendi. Kinetik ölçüm tamamlandığında L-BFA için ΔR



Şekil 5.19: Baskılanmış polimer kaplı silika nanoparçacıkların (MBNK) sensör yüzeyine sabitlenmeden önce (a) ve sonraki (b) hava ortamında deneysel ve hesaplanmış YPR eğrileri

Çizelge 10: Saf altın yüzeyi içeren sistemde bulunan her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri

Tabaka	Kalınlık (nm)	ϵ' (gerçek)	ϵ'' (sanal)
LaSFN9	0	4,238	0
Krom	0,71	22,4939	12,468
Altın	48,73	-12,5657	1,6822
Ortam	0	1	0

Çizelge 11: MBNK içeren sensör sisteminin içerdiği her bir tabakanın hesaplanmış kalınlık ve dielektrik sabiti değerleri

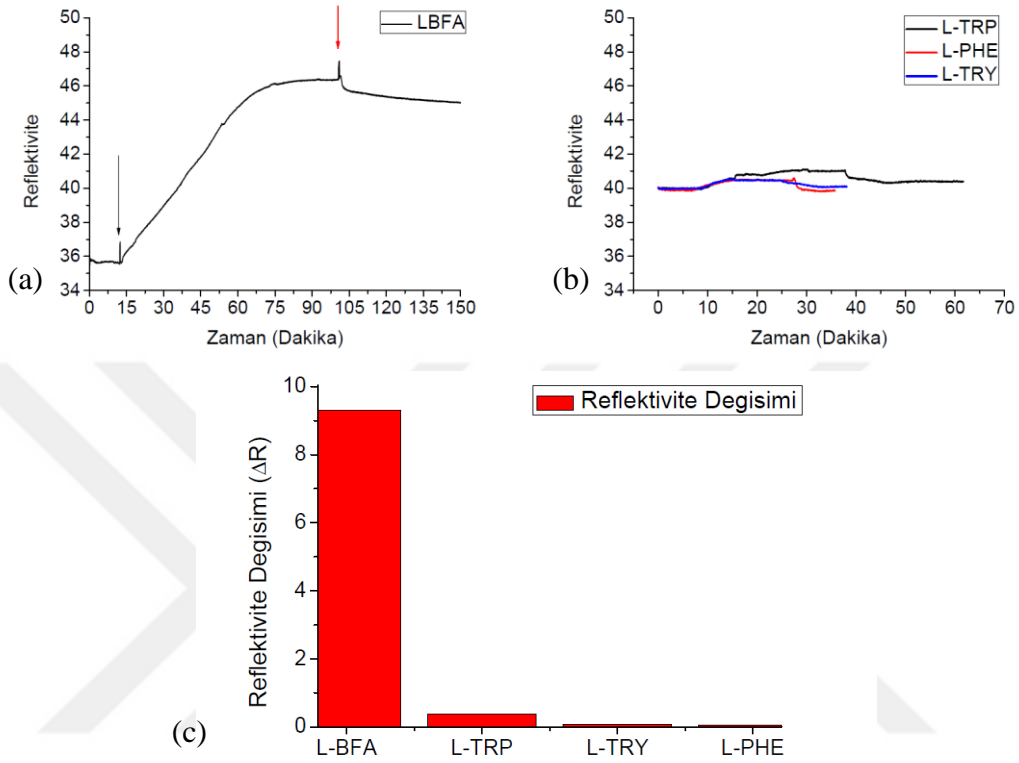
Tabaka	Kalınlık (nm)	ϵ' (gerçek)	ϵ'' (sanal)
LaSFN9	0	4,120	0
Krom	2,14	-14,170	49,85
Altın	50,51	-10,414	1,069
Kaplama	286,01	1,2996	0,069
Ortam	0	1	0

değişiminin 9,3 olduğu ölçüldü. Bu veri tutunmanın seçici olarak gerçekleştiğini vurgular niteliktedir (Şekil 5.20.a)

Analog moleküllerin tutunmasını izlemek amacıyla gerçekleştirilen kinetik ölçüm sonuçları Şekil 5.20.b'de gösterilmektedir. İlk 10 dakika boyunca çözücü varlığında stabil hale gelen yüzeye analog moleküllerinin gönderilmesinin ardından doygunluğa 10 dakika içerisinde ulaşıldığı gözlemlendi. Yıkama işleminin ardından yüzeyin kırılma indisinin başlangıç noktasına geri döndüğü tespit edildi. Bu veriler ışığında yüzeyi L-BFA baskılanmış nanoparçacıkların analog moleküllere karşı bir miktar bağlanma gösterdiği belirlendi; ΔR değişimi B-TRP için 0,39, B-TRY için 0,07 ve B-Phe için 0,05 kadardır.

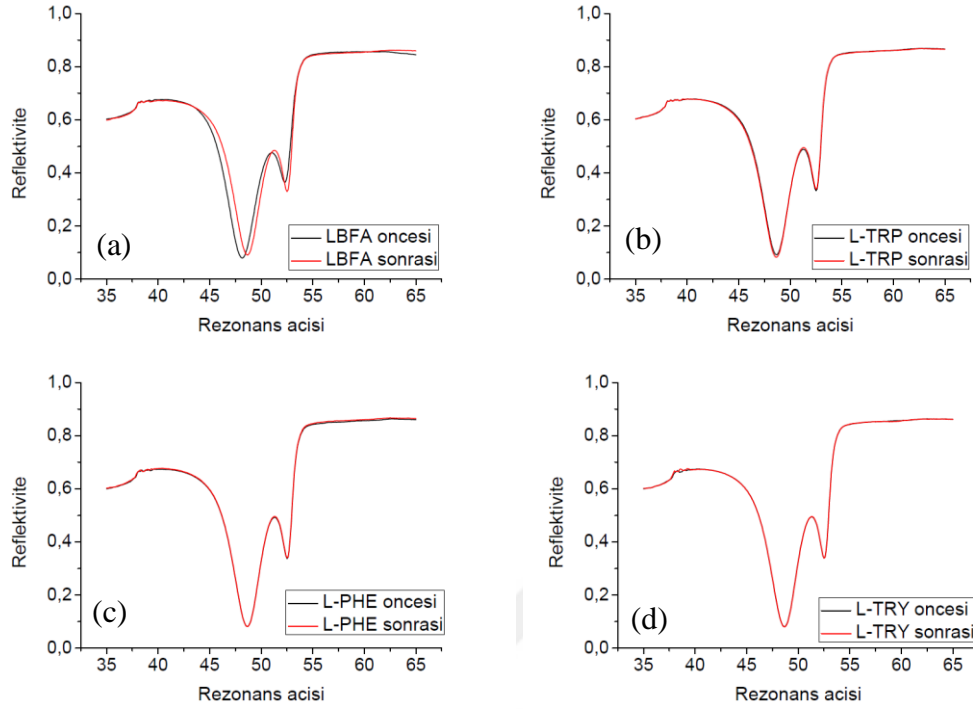
Analit ve analog moleküllerinin tutunmasının takip edildiği kinetik ölçüm öncesi ve sonrasında YPR eğrileri incelendi (Şekil 5.21). Analit molekülün (LBFA) kaviteleleri bağlanması sonucu rezonans açısı değişiminin ($\Delta\theta$) $0,45^\circ$ olduğu hesaplandı. Analog moleküllerinin test edildiği ölçümlerde rezonans açısında herhangi bir değişim

görülmedi. Sistemden geçirilen moleküllerin baskılanmış polimer yüzeyinde meydana getirdikleri değişimin, kinetik ölçüm ile tutarlı bir şekildedir. Yüksek rezonans açısında oluşan omuz, altın metalinin kaplama kalitesi ile yüzeyine sabitlenmiş nanoparçacıkların heterojenliği ile ilgilidir.



Şekil 5.20: 2 mM derişimde analit (a) ve analog (b) moleküllerinin MBNK sistemine tutunma kinetiği ile (c) seçicilik grafiği. (Sablon ve analog moleküllerin nanokürelerle etkileşimi sonucu oluşan kırılma indisi değişimi farkının açık olarak gözlenebilmesi için a ve b grafiklerinin y-eksenleri eşit tutulmuştur.)

Gerçekleştirilen bu testler 2 mM dahil olmak üzere 5 farklı derişim için uygulandı ve benzer şekilde yalnızca analit molekölü için seçici tutunma gözlemlendi. Diğer derişimlerin meydana getirdiği rezonans açısındaki kayma miktarı aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir. Literatür incelendiğinde YPR sensörlerin yalnızca kinetik eğrileri paylaşılmış olup, tutunmanın YPR eğrisinde bir değişime neden olup olmadığı paylaşılmamıştır. Bu çalışmada YPR eğrileri ile kinetik ölçümlerle oldukça tutarlı bir şekilde değişim gösterdiğinden kapsamı daha geniştir.

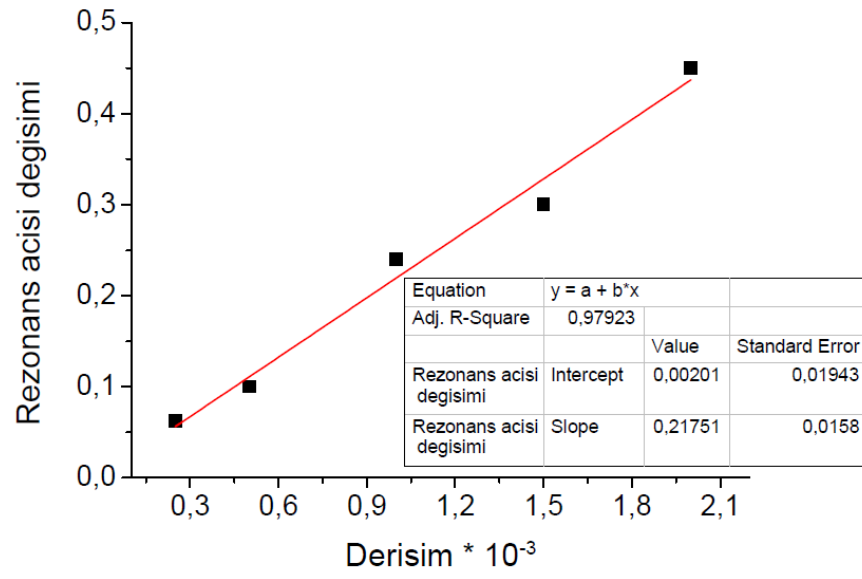


Şekil 5.21: MBNK'in çözelti ortamında her bir molekülün ve bütün kinetik ölçümün öncesi ve sonrasında elde edilen YPR eğrileri

Bu veriler ışığında geliştirilen transdüser mimarisinin Tespit Limiti (LOD) $27,6 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır [175]. Literatürdeki YPR tabanlı sensörlerin tespit limiti genel olarak $1000-0,1 \text{ nM}$ arasında değişmektedir [194-199]. Ayrıca elektrokimyasal tabanlı sensörlerde atto molar seviyesinde tespit limitleri başarılmıştır²⁰⁰. Üretilmiş bu sistem için yüzeye sabitlenen nanoparçacıkların yoğunluğu düzenli bir şekilde artırılabilirse tespit limitinin de artacağı öngörülmektedir.

Çizelge 12: 5 farklı derişimdeki LBFA ile meydana gelen rezonans açısı değişimi

Rezonans açısı değişimi ($\Delta\theta$)	Derişim (10^{-3} M)
0,45±0,03	2,0
0,3	1,5
0,24±0,02	1,0
0,1	0,5
0,062±0,006	0,25



Şekil 5.22: Farklı derişimlere sensörün verdiği cevap ile oluşturulan Tespit Limiti (LOD) hesaplama eğrisi



6. FONKSİYONEL NANOPARÇACIKLARIN SUCUL ORTAMDAN KİRLETİCİLERİN UZAKLAŞTIRILMASI VE KİRLETİCİLERİN MİKTARININ YPR İLE TAYİNİ

Ekolojik sistem ve insan sağlığı göz önünde bulundurulduğunda çevre kirliliği, aşılması gereken önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre çözülmesi gereken en kritik çevre kirliliği sebebinin tekstil boyaları ve ağır metaller olduğu belirtilmektedir. Zararlı maddelerin sucul ortama salınmaları üretim, işleme ve nihai kullanım ömürlerinin sonuna kadarki yaşam döngülerinin her aşamasında meydana gelebilir. Son yıllarda, nanoparçacıkların büyük yüzey alan/hacim oranlarından dolayı yüksek adsorpsiyon kapasitesilerine sahip olmaları ve taşınımlarının kolay kontrol edilebilir olması gibi üstün avantajlarından dolayı su temizleme sistemlerinde kullanımlarına yönelik bilimsel ve teknolojik ilgi oldukça fazladır. Bu tez kapsamında sentezlenen nanoparçacıklar ve yüzey fonksiyonel gruplarının (-NH₂) bu potansiyele cevap verebileceğini düşünerek, bu bölümde anyonik boya ve ağır metallerin sucul ortamdan uzaklaştırılması ve sucuk ortamdaki miktarlarının YPR ile yüksek hassaslıkta tayin edilmesine odaklanılmıştır.

Mezogözenekli silika nanoparçacıkların son yıllarda kataliz [176], ilaç taşınımı [177], adsorpsiyon [178] ve ayırma [179] amacıyla kullanıldığı görülmektedir. Bu malzemeler anyonik veya katyonik yüzey etkin madde varlığında farklı gözenek boyutu ve geometrik şekillerde üretilebilmektedir [180,181]. Bu şekiller arasında hekzagonal, kübik, dodekagonal ve platelet (tabakalı yapı) sayılabilir [180]. Mezogözenekli yapılar su iyileştirilmesi amacıyla kullanılmak için yüksek yüzey alanı, yüzey aktifliği, yapısal kararlılık gibi özelliklere sahip olmaları nedeniyle ümit vaat etmektedirler [182–184]. Silika tabanlı yapıların yüzeyinde Si-OH gruplarının bulunması nedeniyle negatif yüklüdürler ve anyonik maddelerin adsorpsiyonu mümkün değildir. Bu sebeple belirli maddelerin adsorpsiyon sürecinin etkinliği, silika yüzeyinin uygun fonksiyonlandırılmasına bağlıdır. Yüzey fonksiyonlandırılması

gerçekleştirilmiş çeşitli silika nanoparçacıkların ağır metal, katyonik ve anyonik organik madde adsorpsiyonu incelenmiştir [178,185–190].

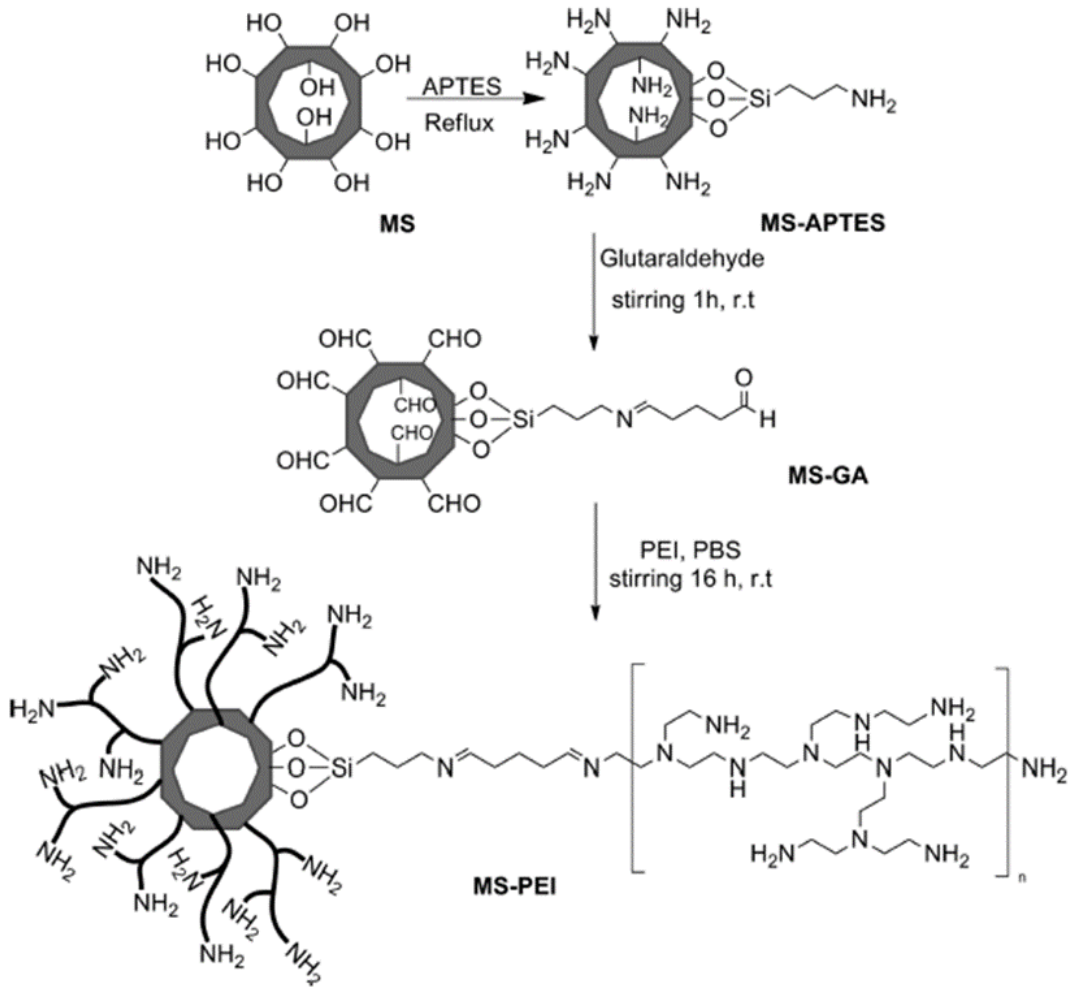
Organik maddeler arasında, oldukça ciddi ölçüde su kaynakları kirliliğine sebep olan boya atığı sayılabilir. 1 mg/L gibi düşük bir derişimde dahi belirgin renk değişime sebep olabildiklerinden araştırma odağına dönüşmüşlerdir [191]. Bu boyaların pek çoğu kanserojen ve zehirli olmakla birlikte ışıkla bozunma, kimyasal ve biyolojik etkenlere karşı oldukça dayanıklıdır [192,193]. Boya içeren atık suların arıtılması için oksidasyon, ozonizasyon [194], koagülasyon ve flokülasyon [195], membran ile ayırma [196] ve adsorpsiyon [197] yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemler arasında en sık karşılaşılan ve yeterli görüleni adsorpsiyondur.

Şelat oluşturabilme özelliklerinden dolayı amin içeren organik tabaka ile fonksiyonlandırılmış mezogözenekli silika su arıtma amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Fonksiyonlandırma basamağı için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler denenmiştir [198–200]. Örneğın, yüzeyde başlatılan zincir açılması reaksiyonu alternatif bir yol olarak denenmiştir. Fakat yüzeye sabitleme yöntemi ile polimer kaplama işleminin daha pratik, basit ve ılımlı koşullarda gerçekleştirilebilir olduğu bilinmektedir [201]. Bu yöntemin avantajlarından faydalanmak amacıyla oldukça pratik bir prosedür yardımıyla anyonik boya atıkları adsorpsiyonu için poliamin ile fonksiyonlandırılmış mezogözenekli silika (MS) üretildi. Alizarin kırmızısı (ARS) ve ksilenol turuncusu (XO) olmak üzere iki farklı anyonik boyaya karşı tutuculuğu incelenen polietilen İmin (PEI) fırça kaplı silika (MS-PEI) nanoparçacıklar, tek tabaka amin tabakası (MS-APTES) kaplanmış parçacıklara nazaran oldukça yüksek adsorpsiyon performansı gösterdi. Bu durumun sebebinin polimer tabakasının daha yüksek oranda amin fonksiyonel grubu içermesi dolayısıyla etkin bölge sayısındaki üstünlükten kaynaklandığı öngörüldü. Her iki nanoparçacığın tutuculuk özellikleri pH, temas süresi, sıcaklık ve tutucu miktarı etkisi incelenerek gözlemlendi. Tutunma mekanizmasını anlayabilmek için Langmuir ve Freundlich izotermi uygulandı. Son olarak termodinamik ve kinetik parametreler hesaplandı.

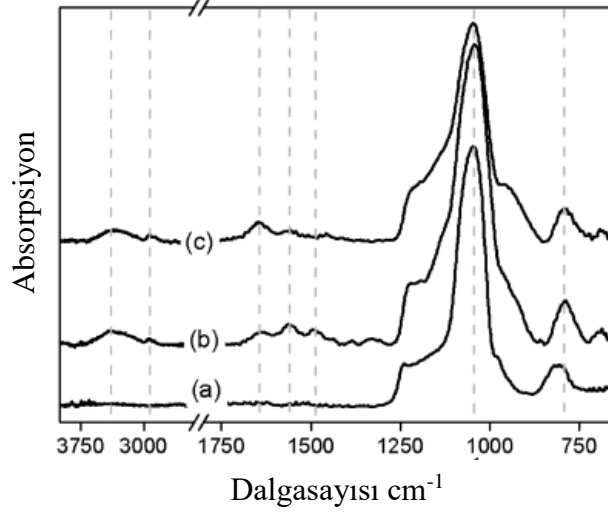
MS sentezi gerçekleştirildikten sonra yüzeyi ileri modifikasyon basamağına hazırlamak için ilk olarak amin uçlu APTES tabakası ile kaplandı. Ardından glutraldehit fonksiyonlandırması gerçekleştirilerek aldehit içeren yüzey hazırlandı. Aldehit grubu bir sonraki adımda PEI ile imin bağı oluşturarak yüzeye bu dallanmış

polimeri kovalent olarak bağlamayı sağladı. Tüm sentez basamakları Şekil 6.1’de gösterilmektedir.

Yüzey modifikasyonu ATR-FTIR Spektroskopisi ile incelendi. Si-O-Si gerilme titreşimi tipik bandı 1047 ve 791 cm^{-1} dalga sayısında gözlemlendi. APTES molekülleri ile modifikasyon $-\text{NH}_3^+$ bükülmesinin 1563 cm^{-1} , NH_2 bükülmesinin 1640 cm^{-1} , CH_2 grubundaki C-H gerilmesinin 2930 cm^{-1} bantları ile görüldü. Benzer şekilde PEI kaplaması ise C=N gerilme titreşimini 1647 cm^{-1} ve N-H gerilme titreşimini 3340 cm^{-1} dalga sayısında oluşturdu (Şekil 6.2).



Şekil 6.1: Tek tabaka (MS-APTES) ve dallanmış polimer (MS-PEI) kaplı mezogözenekli silika parçacıklarının üretim basamaklarının şematik gösterimi

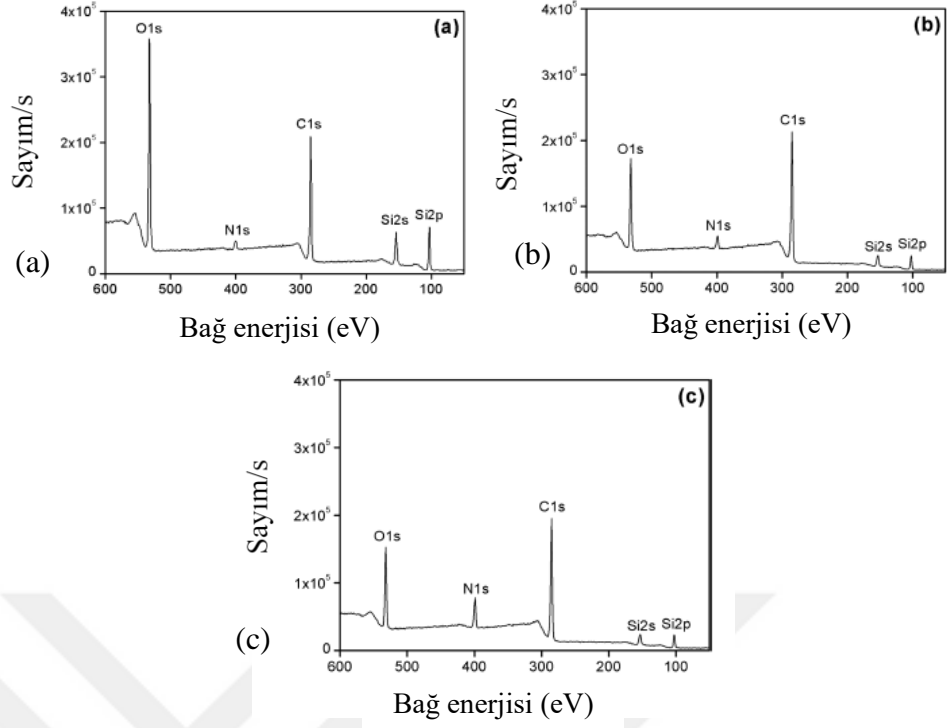


Şekil 6.2: (a) Ham, (b) glutaraldehit ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait ATR-FTIR spektrumları

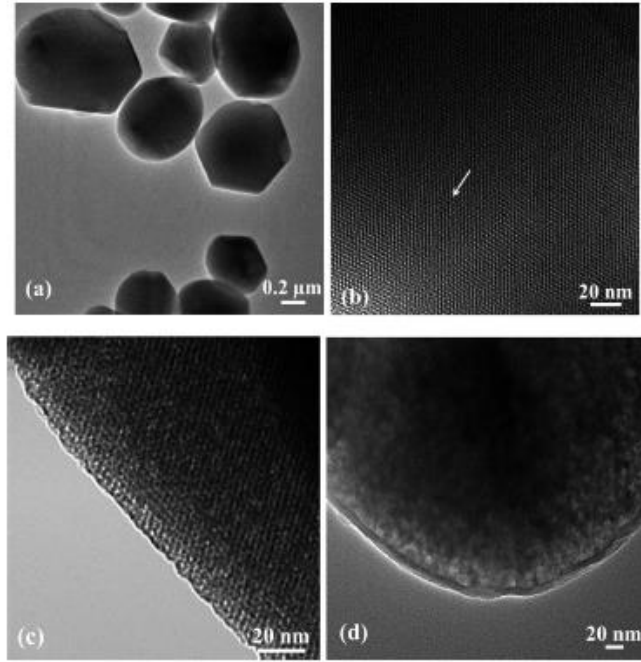
Yüzey modifikasyonunun başarılı olup olmadığı ATR-FTIR Spektroskopisine ek olarak XPS elemental analiz yöntemi ile incelendi. MS-APTES'in geniş taramasında Si2s ve Si2p orbitallerinin bağlanma enerjisi olan 153 ve 101 eV'de sinyal alındı. C1s ve O1s orbitallerinin sinyalleri sırasıyla 284 ve 533 eV'de görülürken, 400 eV'deki sinyal N1s orbitaline ait olup yüzeydeki amin gruplarının varlığını gösterdi. Glutaraldehit ve PEI fonksiyonlandırılması N/C oranı hesaplanarak takip edildi. MS-PEI için 0,16 olarak hesaplanan bu oran MS-Glu için 0,064 bulundu. MS-PEI yapısında daha fazla azot bulunması sebebiyle 2,5 kat daha yüksek oran elde edilmesi yüzey fonksiyonlandırılmasının gerçekleştirilebildiğini gösterdi (Şekil 6.3).

TEM görüntüleri silika parçacıkların mezogözenekli yapısını belli etti. Parçacık boyutunun 200 ve 1000 nm arasında değiştiği görüldü. APTES fonksiyonlandırılması sonrasında da mezogözenek yapısının korunduğu ve PEI kaplamasının ince bir tabaka olarak yüzeyde bulunduğu elde edildi. FTIR, XPS ve TEM sonuçları birlikte yüzey modifikasyonunun varlığını doğruladı (Şekil 6.4).

Modifikasyonun üretim ve karakterizasyonunun ardından MS-PEI adsorpsiyon davranışı incelendi. MS-APTES ise tek tabaka amin fonksiyonel grubuna sahip yapıyla referans malzeme olarak kullanıldı.



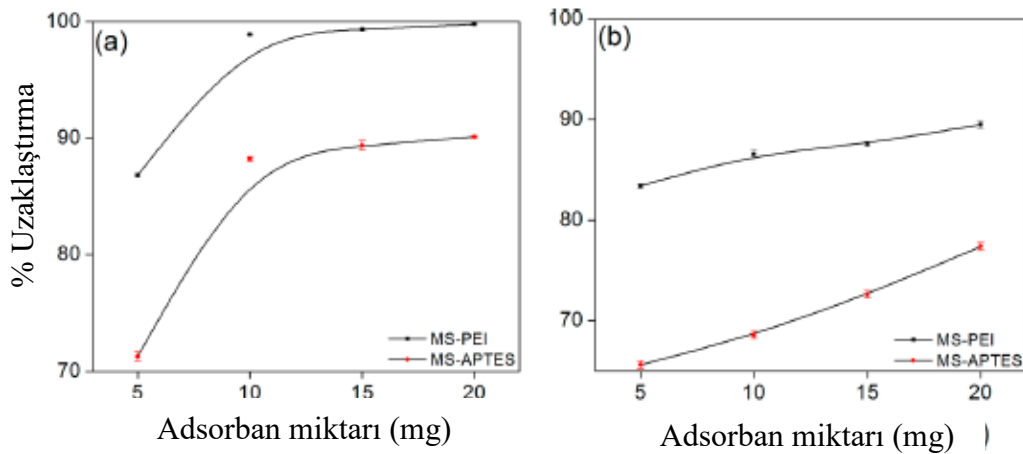
Şekil 6.3: (a) Ham, (b) gluteraldehit ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait XPS taramaları



Şekil 6.4: (a) Ham, (b) APTES ve (c) PEI kaplanmış mezogözenekli silikalara ait TEM görüntüleri.

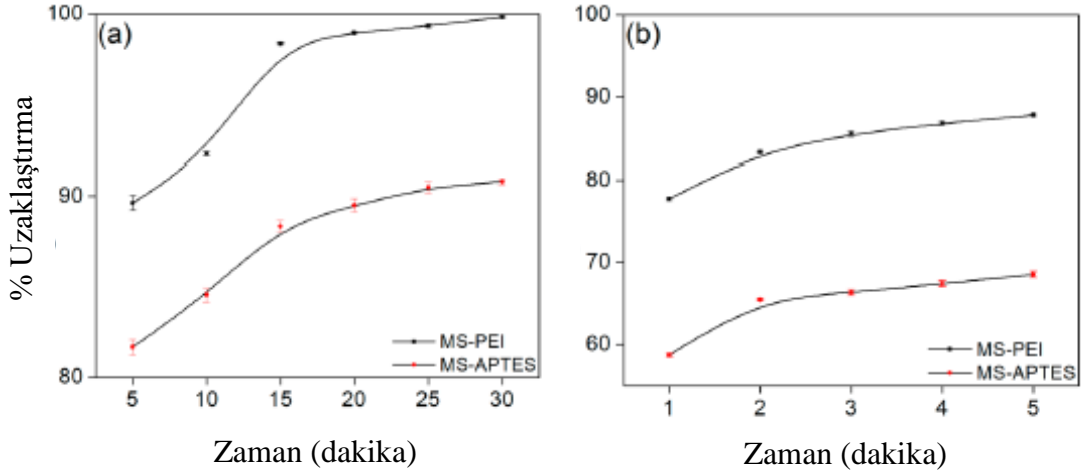
6.1 Anyonik Boya Adsorpsiyon Çalışmaları

Boya adsorpsiyonuna adsorban miktarının etkisi farklı oranda parçacık (5, 10, 15 ve 20 mg) kullanılarak oda sıcaklığında test edildi. MS-APTES ve MS-PEI parçacıklarının performansını karşılaştırabilmek amacıyla 15 ppm derişimde boya bulunan 10 ml çözeltiye eklendi ve optimize edilen temas süresi ile pH (ARS: pH = 6, t = 15 dakika; XO: pH = 4, t = 2 dakika) değerlerinde muamele edildi. Boya uzaklaştırılması adsorban artışı ile artış gösterdi. MS-PEI, MS-APTES parçacıklarından daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi gösterdi. İki parçacık da maksimum adsorpsiyona ARS için 15 mg (sırasıyla %99 ve %89) ve XO için 20 mg (sırasıyla %89 ve %77) miktarlarında ulaştı. ARS moleküllerinin yükü (SO₃), XO (COO⁻) molekülünün yükünden daha kararlı olduğundan, ARS boyasının parçacıklara tutunma oranı daha yüksek elde edildi (Şekil 6.5).



Şekil 6.5: Ortamda bulunan adsorban miktarının (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi

Su arıtma için üretilen ideal bir adsorbanın kısa sürede tutma göstermesi ve dengeye ulaşması gerekir [202]. Temas süresinin adsorpsiyon üzerindeki etkisini incelemek için 15 ppm derişiminde boya içeren 10 ml çözeltiye 5-30 dakika arayla ARS adsorpsiyonu için, 1-5 dakika arayla da XO (sırasıyla %99 ve %89) parçacıklar (ARS için 10 mg, XO için 5 mg) eklendi. Her iki boya için de temas süresi arttıkça tutunmada da artma gözlemlendi. Fakat tüm temas süresi için MS-PEI, MS-APTES parçacıklarından daha fazla adsorpsiyon gerçekleştirdi (Şekil 6.6).

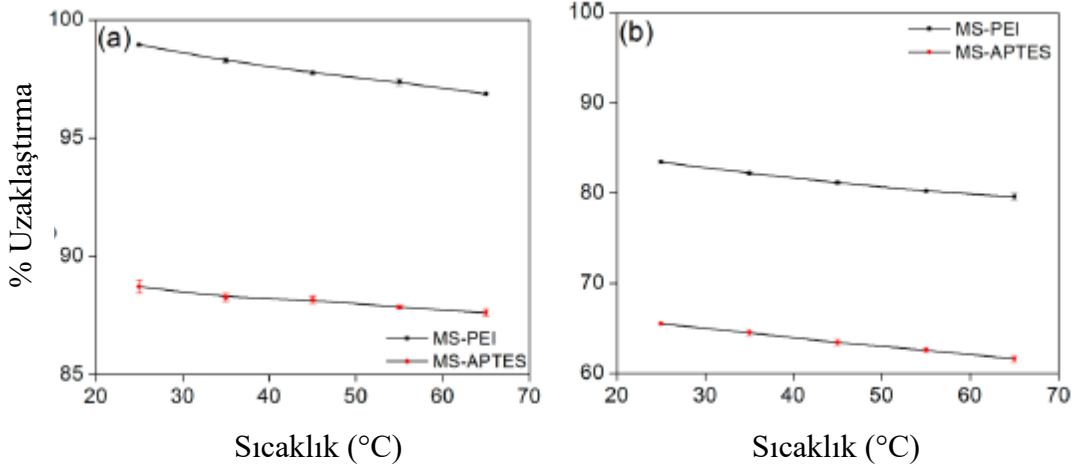


Şekil 6.6: Temas süresinin (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi.

MS-PEI, 15 ppm ARS boyasının neredeyse tamamını 30 dakikada uzaklaştırırken, aynı koşullarda MS-APTES %90 adsorpsiyon sağlayabildi. XO için ise 5 dakika sonrasında sırasıyla %88 ve %68 adsorpsiyon gözlemlendi. Temas süresini uzatmak XO boyası için adsorpsiyonda herhangi bir değişim meydana getirmedi. Yüksek oranda fonksiyonel grup içeren MS-PEI, MS-APTES'ten daha yüksek adsorpsiyon sağladı.

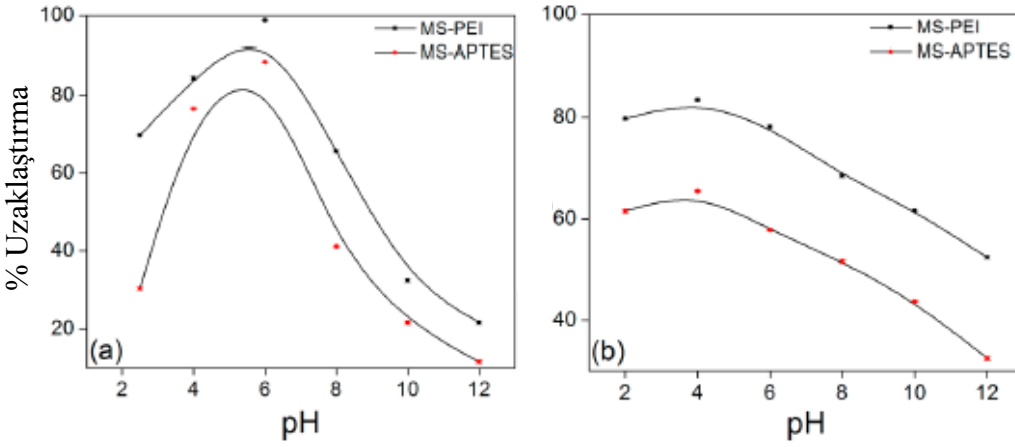
Sıcaklık, adsorpsiyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu sebeple 25, 35, 45 ve 65°C sıcaklıklarında adsorpsiyon kapasitesi incelenmiştir. İki adsorban (ARS: pH = 6, t = 15 dakika, 10 mg; XO: pH = 4, t = 2 dakika, 5 mg) 15 ppm boya içeren 10 çözeltiliye eklendi. İki durumda da sıcaklık artışı adsorpsiyonu az bir miktar azaltırken, maksimum adsorpsiyon oda sıcaklığında elde edildi. Bu sonuçlar adsorpsiyonunun ekzotermik niteliğe sahip olduğunu gösterdi. Çözünen maddenin çözünürlüğü sıcaklık artışı ile genellikle arttığından [203], sıcaklık artışı adsorpsiyon kapasitesinde azalmaya neden oldu (Şekil 6.7).

Yüklü maddelerin adsorpsiyonunda ortamın pH'ı, adsorbanın yüzey yükünü ve boyaların iyonlaşmasını etkilediği için oldukça önemli bir rol oynar. Üretilmiş adsorbanların pH 2-12 arasında 0,1 M HCl ve 0,1 M NaOH ile ayarlama yapılarak adsorpsiyon kapasiteleri takip edilmiştir. MS-PEI ve MS-APTES'in ARS (15 ppm, 10 mL, t = 15 dakika, 10 mg adsorban) adsorpsiyonu pH 2'den itibaren artış gösterirken pH=6'da maksimuma ulaştı. pH=6'da yüzeyde bulunan amin gruplarının protonlanmasından dolayı negatif yüklü ARS boyasının yüksek miktarda tutunmasını



Şekil 6.7: Sıcaklığın (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi.

sağladı (MS-PEI için %98 ve MS-APTES için %88) [204]. pH değerinin daha yükseğe ayarlanması yüzeyin pozitif yükünü azalttığından bir elektrostatik itme oluşturarak adsorpsiyon kapasitesinde düşüş meydana getirdi. Benzer bir yönelim XO (15 ppm, 10 mL, t = 2 dakika, 5 mg adsorben) için de iki parçacık durumunda da gözlemlendi. MS-PEI %83 ve MS-APTES %65 maksimum adsorpsiyon gösterdi (Şekil 6.8).



Şekil 6.8: pH'nin (a) ARS, (b) XO adsorpsiyonuna etkisi.

Adsorpsiyon izotermi adsorban ve adsorbat arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için önemlidir. Adsorpsiyon sonuçları Langmuir [205] ve Freundlich [206] izotermi uygulanarak ifade edildi. Langmuir izotermi adsorpsiyonun boya adsorplanmasının sınırlı sayıda aktif uçlar ile tek tabaka halinde gerçekleştiği varsayımına dayanır ve aşağıdaki denklem ile ifade edilir:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max}b} + \frac{C_e}{q_{max}}$$

q_e adsorban tarafından tutulan metal iyonu miktarı (mg/g), C_e denge durumunda çözültide bulunan metal iyonu derişimi (mg/L), b adsorpsiyon enerjisi ile ilgili denge sabiti (L/mg) ve q_{max} maksimum adsorpsiyon kapasitesini (mg/g) temsil etmektedir. Boya adsorpsiyonu aşağıda verilen boyutsuz bir faktör olan ayırım etmeni (R_L) ile ifade edilebilmektedir.

$$R_L = \frac{1}{bC_0 + 1} \quad 6.2$$

b Langmuir sabiti (L/mg) ve C_0 başlangıç durumundaki metal iyonu derişimidir (mg/L). R_L değeri adsorpsiyonun tek yönlü ($R_L=0$), doğrusal ($R_L=1$), elverişli ($0 < R_L < 1$) ya da elverişsiz ($R_L > 1$) olması hakkında bilgi verir [202,207].

Freundlich izotermi adsorbatın adsorban yüzeyine tutunmasının heterojen bir şekilde gerçekleştiğini ve tek tabaka oluşumu ile sınırlı olmadığını varsayar ve aşağıdaki denklem ile ifade edilir:

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad 6.3$$

K_F (mg/g) adsorpsiyon kapasitesi ile ilgilidir ve Freundlich izoterm sabiti olarak isimlendirilir. C_e ve q_e sırasıyla adsorbat ve adsorbanın denge derişimlerini temsil ederken, $1/n$ (elverişli sınırı 0 ve 1 arasında değişir) yüzey heterojenitesi hakkında bilgi verir. Düşük $1/n$ değeri adsorpsiyon sürecinin daha heterojen olduğunu belirtir [207]. Çizelge 13'te Langmuir ve Freundlich parametreleri ve korelasyon katsayıları listelenmektedir.

Adsorbat ve adsorban arasındaki ilişki Langmuir ve Freundlich izotermi uygulanarak incelendi. MS-PEI parçacıklarının ARS ve XO boyalarına karşı gösterdiği maksimum adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 147,28 ve 186,92 mg/g olarak hesaplandı. MS-APTES için ise bu değer 3-4 kat daha az olarak elde edildi. Bu durum MS-PEI'nin adsorpsiyon kapasitesinin MS-APTES'ten daha yüksek olduğunu

Çizelge 13: MS-APTES ve MS-PEI için Langmuir ve Freundlich izotermi parametreleri

MS-APTES				MS-PEI			
	parameters	Alizarin Red S	Xylenol Orange		parameters	Alizarin Red S	Xylenol Orange
Langmuir	q_{max} (mg g ⁻¹)	35.71 ± 2.40	65.23 ± 1.72	Langmuir	q_{max} (mg g ⁻¹)	147.28 ± 7.36	186.92 ± 2.78
	b (L mg ⁻¹)	0.44 ± 0.11	0.11 ± 0.06		b (L mg ⁻¹)	0.10 ± 0.05	0.06 ± 0.02
	R_L	0.34 ± 0.02	0.65 ± 0.11		R_L	0.66 ± 0.14	0.70 ± 0.08
	R^2	0.845	0.868		R^2	0.987	0.973
Freundlich	K_f (mg g ⁻¹)	11.98 ± 1.21	7.03 ± 1.5	Freundlich	K_f (mg g ⁻¹)	13.41 ± 1.08	11.76 ± 1.25
	$1/n$	0.36 ± 0.08	0.70 ± 0.20		$1/n$	0.93 ± 0.03	0.88 ± 0.15
	R^2	0.738	0.805		R^2	0.976	0.978

gösterdi. Hesaplanan R_L değeri her iki parçacık için $0 < R_L < 1$ elde edildi ve adsorpsiyonun hem ARS hem de XO boyaları için elverişli olduğunu vurguladı. Literatürde rapor edilen [208] mezogözenekli yapıya sahip olmayan silika yüzeyi PEI ile kaplanarak su arıtmada kullanılan parçacıklar ile bu çalışma karşılaştırıldı ve mezogözenekli yapının adsorpsiyon kapasitesini oldukça arttırdığı sonucuna varıldı. Tablodaki Lineer regresyon katsayıları, MS-APTES için Langmuir izotermi ve MS-PEI için ise hem Langmuir hem de Freundlich izotermelerinin uygun olduğunu göstermektedir.

Adsorban sistemlerinde adsorpsiyon kinetiğini incelemek adsorbat tutma hızı ve deneye ulaşma süresini belirleyebilmek için kritik bir rol oynar. Adsorpsiyon sürecinin kinetik mekanizmasını açıklayabilmek için sonuçlar yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece modelleri ile fit edildi. Yalancı birinci derece kinetik denklemi aşağıdaki gibidir:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \left(\frac{k_1}{2,303} \right) t \quad 6.4$$

q_e ve q_t dengede ve t anında adsorban tarafından tutulan metal iyon derişimi (mg/g) ve k_1 (dk⁻¹) ise birinci derecenin adsorpsiyon katsayısıdır.

Yalancı ikinci derece kinetik denklemi aşağıdaki gibidir:

$$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad 6.5$$

k_2 (g/mg.ml) denge anında ikinci dereceden kinetik hız katsayısıdır. Kinetik parametreler ve korelasyon katsayıları Çizelge 14'te belirtilmektedir. Bütün adsorbanlar için yalancı ikinci derece kinetik modeli daha yüksek R^2 değeri elde edildi. Teorik olarak hesaplanan q_e değerleri ikinci dereceden kinetik mekanizması için deneysel sonuçlar ile oldukça benzerlik gösterdi. Sonuçlar hız sınırlayıcı basamağın adsorbatın adsorbat yüzeyine kimyasal tutunmasından kaynaklandığını vurguladı .

Çizelge 14 MS-APTES ve MS-PEI için yalancı birinciden ve yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon kinetik parametreleri

MS-APTES				MS-PEI			
	parameters	Alizarin Red S	Xylenol Orange		parameters	Alizarin Red S	Xylenol Orange
pseudo-first-order	q_e (mg g ⁻¹) calculated	1.86 ± 0.18	7.78 ± 0.13	pseudo-first-order	q_e (mg g ⁻¹) calculated	2.15 ± 0.16	6.32 ± 0.26
	k_1 (min ⁻¹)	0.13 ± 0.02	0.69 ± 0.11		k_1 (min ⁻¹)	0.15 ± 0.02	0.76 ± 0.21
	R^2	0.869	0.925		R^2	0.929	0.998
pseudo-second-order	q_e (mg g ⁻¹) calculated	13.82 ± 0.70	21.34 ± 0.15	pseudo-second-order	q_e (mg g ⁻¹) calculated	15.24 ± 0.4	27.20 ± 0.78
	k_2 (g/mg min)	0.15 ± 0.05	0.23 ± 0.03		k_2 (g/mg min)	0.13 ± 0.05	0.21 ± 0.03
	R^2	0.999	0.999		R^2	1	1

Adsorpsiyon sürecinin termodinamik özellikleri entropi (ΔS°), entalpi (ΔH°) ve Gibbs serbest enerjisi (ΔG°) hesaplanarak belirlendi (78-80). ΔG° aşağıdaki denklem ile hesaplandı:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad 6.6$$

K denge sabiti, T (K) mutlak sıcaklık ve R (8,314 J/mol.K) ise evrensel gaz sabitini temsil etmektedir. Entalpi değişimi ve entropi ise şu denklem ile ifade edilmiştir:

$$\ln K = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad 6.7$$

Denge sabiti (K) ise şu şekilde hesaplanır:

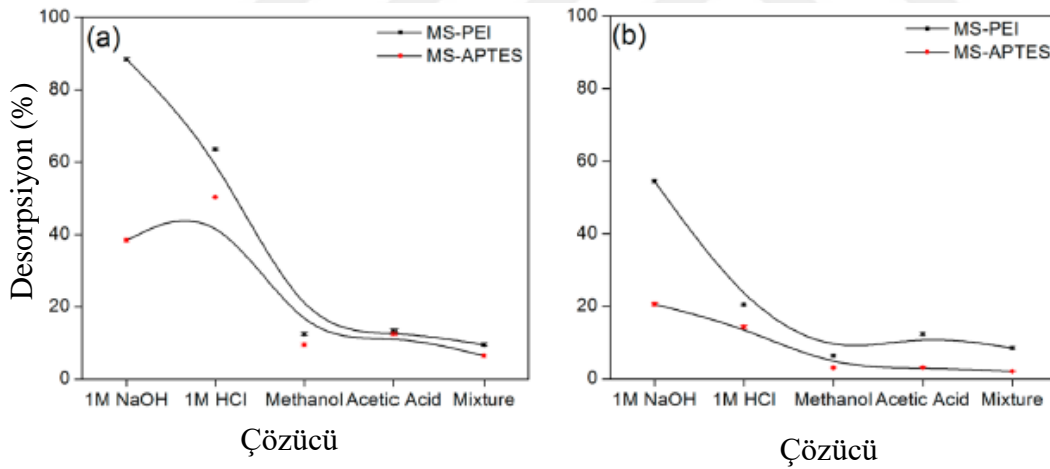
$$K = \frac{q_e}{C_e} \quad 6.8$$

q_e (mg/L) denge durumunda katı faz derişimi ve C_e (mg/L) çözeltinin denge derişimini temsil eder. Hesaplanan termodinamik parametreleri Çizelge 15'te listelenmektedir. Negatif bulunan ΔG° değeri adsorpsiyonun kendiliğinden gerçekleştiğini gösterdi. Aynı zamanda bütün adsorbanlar için negatif ΔH° hesaplanması sürecin ekzotermik olduğunu belirtti. Adsorban-sıvı ara yüzeyinde boya tutunması sırasında rastgeleliğinin ve buna bağlı olarak adsorpsiyon kapasitesinin arttığını pozitif ΔS° değeri gösterdi. Hız sabiti MS-PEI için MS-APTES'ten daha büyük olarak hesaplandı. Hız sabitinin büyük olması MS-PEI yüzeyinde gerçekleşen boya adsorpsiyonunun daha güçlü bir bağlanma göstererek neredeyse tamamlandığı anlamına gelmektedir.

Çizelge 15 MS-APTES ve MS-PEI için yalancı birinciden ve yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon kinetik parametreleri

parameters	MS-APTES		parameters	MS-PEI	
	Alizarin Red S	Xylenol Orange		Alizarin Red S	Xylenol Orange
ΔG° (kJ mol ⁻¹)	-11.84 ± 1.02	-7.54 ± 0.93	ΔG° (kJ mol ⁻¹)	-24.37 ± 1.27	-13.08 ± 0.98
ΔH° (kJ mol ⁻¹)	-9.32 ± 0.13	-5.72 ± 0.27	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	-19.41 ± 0.23	-10.75 ± 0.52
ΔS° (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	0.008 ± 0.003	0.006 ± 0.001	ΔS° (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	0.017 ± 0.004	0.008 ± 0.002
K	1.13 × 10 ² ± 2.63	0.21 × 10 ² ± 0.69	K	1.95 × 10 ⁴ ± 15.97	2.01 × 10 ² ± 1.76

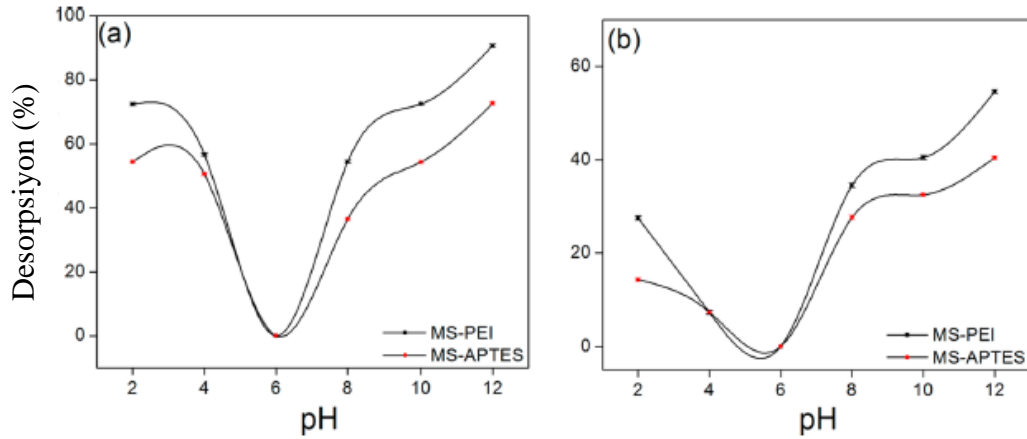
Tekrar kullanıma olanak sağlaması açısından desorpsiyon sürecinin etkili bir şekilde gerçekleşmesi önemlidir. Adsorbanın yenilenmesi sistemlerinin karşılaştırılmasında kullanılan bir parametredir. Bu sebeple farklı organik çözücü ve pH değerlerinde desorpsiyon uygulandı. Yüzeyi doygun parçacıklar 1 M HCl, 1 M NaOH, metanol, asetik asit ve metanol-asetik asit karışımı (1:1) halindeki çözücülerinden 10 ml uygulanarak yıkandı (ARS: T=25°C, t=15 dakika; XO: T=25°C, t=2 dakika), yıkama çözeltileri spektroskopik olarak incelendi (Şekil 6.9). İki sistem için de en iyi desorpsiyon NaOH ile gerçekleştirilebildi (MS-PEI: ARS için %90 ve XO için %55; MS-APTES: ARS için %40 ve XO için %20). Desorpsiyon üzerinde pH etkisi incelendi ve maksimum desorpsiyon, ortamdaki negatif yükün artmasından dolayı, bazik koşullarda gözlemlendi. (MS-PEI: pH=12 ve ARS için %90, XO için %54; MS-APTES: pH=12 ve ARS için %72 ve XO için %27).



Şekil 6.9: Farklı çözücülerin boyaların desorpsiyonu üzerindeki etkisi (a) ARS (b) XO.

Arıtmada adsorpsiyon yönteminin avantajı malzemelerin yeniden kullanılabilirliğidir. Adsorbanın yenilenmesi maliyeti düşüren bir parametre olduğundan önemlidir. Bu sebeple desorpsiyon çalışmalarının ardından parçacıkların tekrar kullanılabilirliği incelendi. MS-PEI ARS için 7 tekrara kadar kullanılabilirken, XO için 5 kere kullanılabilir olduğu gözlemlendi. MS-APTES ise ARS için 7, XO için 5 kere kullanılabilir bulundu. Sonuç olarak polimer kaplı parçacıkların tek tabaka kaplı

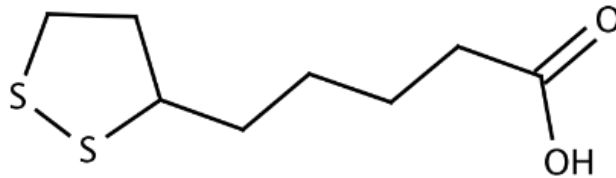
olanlara göre daha yüksek bir adsorpsiyon kapasitesi gösterdiği, ayrıca tekrar kullanıldığı durumda da daha iyi performans gösterdiği kaydedildi (Şekil 6.10).



Şekil 6.10: pH'ın boyaların desorpsiyonu üzerindeki etkisi (a) ARS, (b) XO

6.2 Yüzey Plazmon Rezonans Spektroskopisi ile Sucul Ortamda Anyonik Boya Miktarı Tayini

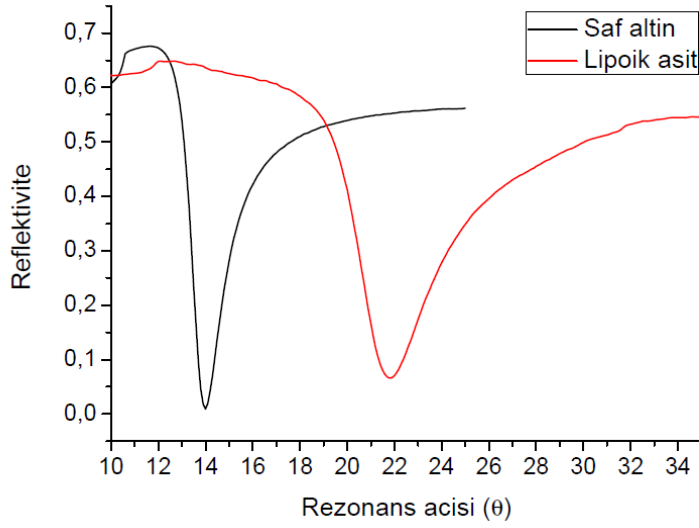
YPR düzeneği için adsorpsiyon kapasitesi yüksek olan MS-PEI parçacıkları altın alttaş üzerine sabitlendi. Bunun için ilk olarak altın metali lipoik asit (LA) ile modifiye edildi (Şekil 6.11). Altın-sülfür bağından faydalanılarak yüzeye sabitlenen LA, DCC ile aktive edilerek MS-PEI yapısındaki amin grubu ile bağ kurması sağlandı.



Şekil 6.11: Lipoik asitin kimyasal yapısı

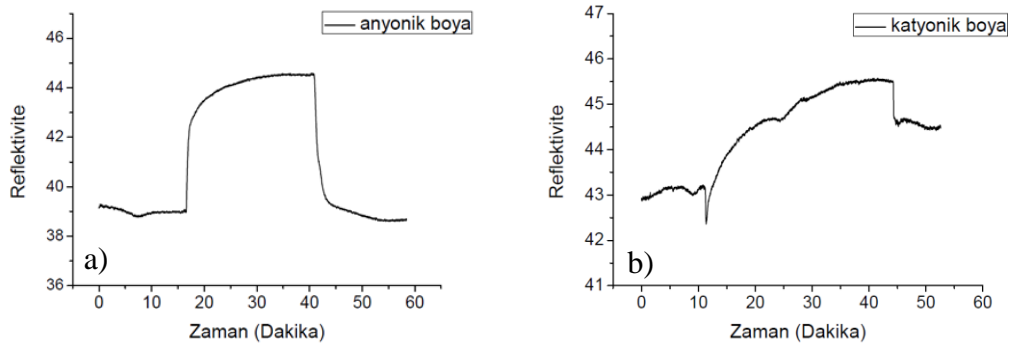
Altın alttaş yüzeyinin lipoik asit tabakası ile kaplanması YPR ile test edildi. Yüzeyde lipoik asit tabakasının oluşması YPR spektrumunda $7,8^\circ$ rezonans açısı kaymasına sebep olduğu görüldü (Şekil 6.12). Benzer şekilde MS-PEI tabakası içinde YRP taraması yapıldı ancak lipoik asit ile karşılaştırıldığında daha büyük boyuta sahip olan parçacıkların daha az rezonans açısı kayması gösterdiği görüldü. Bunun sebebinin yüzeyin en az bir tabaka oluşturacak şekilde yoğun ve homojen bir nanoparacık kaplamasına erişilememesi olduğu anlaşılmıştır. Homojenite sağlanamamasından

dolayı beklenen rezonans açısı kaydedilememiş olsa da MS-PEI parçacıkların yüzeyde bulunduğu optik mikroskop ile elde edildi.



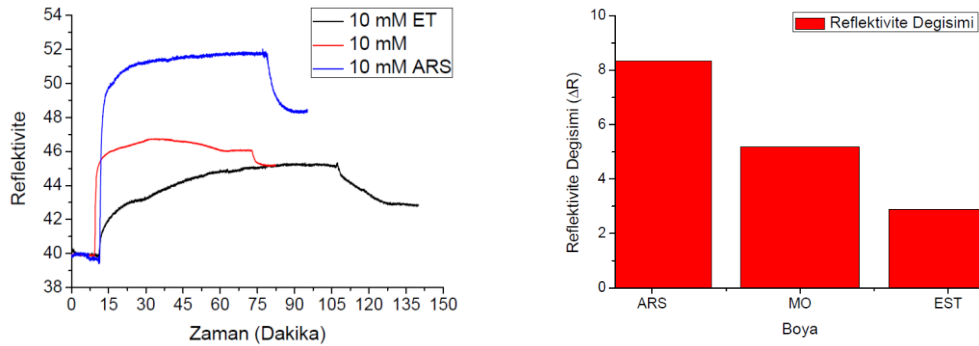
Şekil 6.12: Saf, lipoik asit ve MS-PEI kaplı altın alttaşının YPR eğrileri

Altın yüzeyi homojen kaplanamadığından test edilecek boya için işlem görmemiş altın yüzeyine tutunma gösterip göstermeyeceği kontrol deneyi olarak gerçekleştirildi. İlk olarak anyonik boya (metil oranj, MO) 10 mM derişiminde ve pH 6 değerinde yüzeye gönderildi. 20 dakika kadar süre içerisinde yüzeye adsorblanan boyanın yıkama işlemi sonrası yüzeyden tamamen ayrıldığı gözlemlendi. Buna karşın katyonik boya (metilen mavisi, MB) ise 1,42 ΔR ve 0,64 $\Delta \theta$ değişimleri meydana getirerek saf altın yüzeyine tutunma gösterdi. Bu kalıcı fizisorpsiyonun negatif yüklü altın yüzeyi ile pozitif yüklü katyonik boyanın arasında yapmış oldukları kuvvetli elektrostatik etkileşimden kaynaklandığı görülmüştür. Dolayısıyla anyonik boya için çıplak altın yüzey ile spesifik olmayan bir etkileşim yapmaları elektrostatik olarak mümkün değildir.



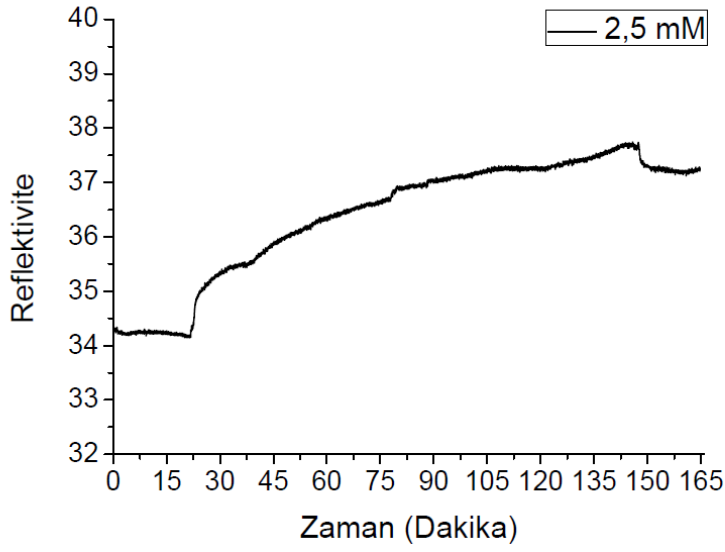
Şekil 6.13: Saf altın yüzeyine (a) MO (anyonik) ve (b) MB (katyonik) boya tutunmasının kinetiği

MS-PEI parçacıklarının seçiciliğini YPR ile test etmek için üç farklı yapıda anyonik boya kullanılmıştır. Yapılarında $-\text{SO}_3^{-2}$ grubu ortak olarak bulunan bu boyaların molekül ağırlıkları büyükten küçüğe doğru eriokrom siyahı T (EBT, MA:461,38 g/mol), metil oranj (MO, MA:327,33 g/mol) ve alizarin kırmızı S (ARS MA:240,21 g/mol)'dir. 10 mM derişimde (pH=6) hazırlanan boyalar MS-PEI kaplı altın yüzeyine gönderildi. Yıkama sonrasında ΔR değişimleri sırasıyla EST için 2,88, MO için 5,19 ve ARS için 8,34 olarak ölçülmüştür. ΔR değişiminin boyanın molekül ağırlığının azalması ile artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu durumun sebebi daha düşük molekül ağırlıklı boyaların difüzyon hızlarının daha yüksek olması ve PEI fırçaları arasında daha kolay girebilmesi olabilir (Şekil 6.14).



Şekil 6.14: Üç farklı anyonik boyanın MS-PEI içeren sensör yüzeyine adsorplanmasının kinetiği

En yüksek tutunma gösteren ARS boyasının daha düşük derişimde (2,5 mM) adsorplanması test edildi. 3,05 ΔR ve $0,1^\circ \Delta\theta$ değişim meydana geldiği görüldü (Şekil 6.15). 2,5 mM derişime ek olarak 4 farklı konsantrasyonda ölçümler gerçekleştirildi. Elde edilen $\Delta\theta$ değişimleri aşağıdaki çizelgede listelendi. Tespit Limiti 2.2 mM olarak elde edildi [175].

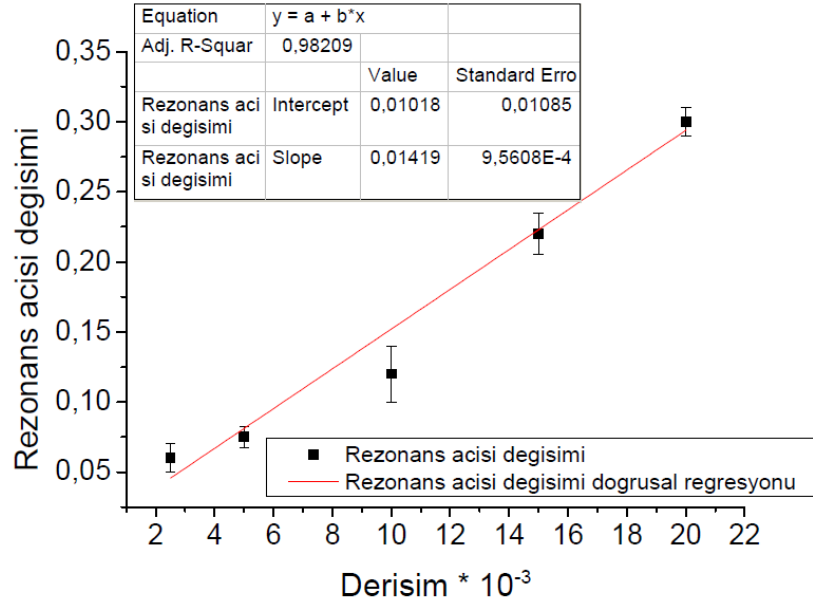


Şekil 6.15: 2,5 mM derişimde ARS boyasının kinetik ölçümü

Çizelge 16: 5 farklı derişimdeki ARS ile meydana gelen rezonans açısı değişimi

Rezonans açısı değişimi ($\Delta\theta$)	Derişim (10^{-3} M)
0,3±0,01	20,0
0,22±0,015	15,0
0,12±0,02	10,0
0,075±0,0075	5,0
0,06±0,01	2,5

Tekstil boyalarının atık sulardaki derişimi Mart 2018’de yayınlanan bir rapora göre 300 mg/L olarak belirtilmiştir [209]. Tasarlanan sistemin tespit limiti 240 mg/L olarak hesaplanmış ve atık sulardaki boya tespitine uygun olduğu görülmüştür. Altın yüzeyine sabitlenen MS-PEI parçacıklarının yoğunluğunun artırılması durumunda derişim tayini yapılabilmesi muhtemeldir.



Şekil 6.16: Farklı derişimlere sensörün verdiği cevap ile oluşturulan Tespit Limiti (LOD) hesaplama eğrisi



7. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında farklı geometrilere polimerik sistemler hazırlanarak plazmonik özellikleri aracılığıyla sensör uygulamaları üzerine çalışıldı. Hazırlanan polimerik yapılar; Polisiyanat ester nanoçubuk (PEN) dizilimi, RAFT polimerizasyonu yöntemi ile silika nanoparçacık yüzeyinde üretilen Metakrilik asit-ko-etilenglikol dimetakrilat (MAA-ko-EDMA) kopolimeri ve ısı polimerizasyonu yöntemi ile altın yüzeyinde üretilen Metakrilik asit-ko-etilenglikol dimetakrilat (MAA-ko-EDMA) ince filmidir.

Termoset bir polimer olan polisiyanat ester, 180 nm çaplı anodik alümina membran (AAO) içerisinde ısı işleme maruz bırakıldıktan sonra BK7 cam alttaş üzerinde düzenli bir şekilde üretildi. Nanoçubuk yüzeyleri farklı kaplama açılarında altın metali ile modifiye edilip, plazmonik özellikleri UV Spektroskopisi ile incelendi ve 180 nm çaplı anodik alümina membran ile üretilen polisiyanat ester nanoçubuklar için 560 nm dalgaboyunda enine (transverse) plazmon rezonans piki elde edildi. Altın yüzeyine ilk basamakta sistamin ikinci basamakta biyotin bağlanarak bu pikteki kayma yardımıyla sensör performansı takip edilmesi planlandı. Fakat sistamin molekülünün meydana getirdiği değişim hata payı sınırlarında kaldığından bir gelişim kaydedilemedi. Çubukların kararlı bir yapıda tekrar üretilmemesinden çalışmaya devam edilemedi. Daha ılımlı koşullarda kimyasal aşındırma uygulandığı takdirde sağlıklı bir şekilde üretilebilecek olan nanoçubuk dizilimleri Yüzey Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) için uygun zemin sağlama ihtimali yüksek bir malzemedir.

Moleküler baskılama gerçekleştirilen bu çalışmada ilk olarak geleneksel YPR cihazlarına kıyasla hem ham hem de sarf malzemesi oldukça ucuza mal edilen Nanoeye Flexpr kullanıldı. Aykutlu Dana tarafından geliştirilen bu cihazın Performans Katsayısı grubumuza ait olan klasik YPR PK'sı ile karşılaştırıldı. Sırası ile 9,18 ve 16,26 olarak hesaplanan değerler incelendiğinde Flexpr düzeneğinin avantajları da göz önünde bulundurularak kabul edilebilir bir aralıkta olduğuna karar verildi. Kendiliğinden oluşan tek katman ve polimer tabakalarının YPR eğrileri ile takibi gerçekleştirildi. Uygun polimer kullanılarak üretilen cihazın bütünlüğü ölçümler

sırasında tercih edilen çözücüler sebebiyle zarara uğradığından çalışmaya devam edilemedi.

Geleneksel YPR cihazı ile takip edilmek üzere, moleküler baskılama yığın polimerizasyonunun dezavantajlarından kaçınabilmek amacıyla silika nanoparçacık malzemesinin yüzeyinde ince film yapısında kopolimer tabakası, RAFT polimerizasyonu yöntemi ile üretildi. İlk olarak polimerizasyonda gerekli olan RAFT ajanı ve tercih edilen şablon molekülü (L-Boc-Fenil alanin anilid) sentezlendi. Ardından Stöber yöntemi ile yaklaşık 100 nm çapında silika nanoparçacıklar üretilip, APTES ve başlatıcı tabakaları ile fonksiyonlandırıldıktan sonra NMR, SEM, XPS yöntemleri ile karakterize edildi. Yüzey Plazmon Rezonans yöntemi ile biyosensör uygulamaları gerçekleştirilecek olan sistem altın metali yüzeyine daldırarak kaplama işlemi ile sabitlendi.

Silika nanoparçacıkların altın yüzeyinde bulunduğu, herhangi bir işlem uygulanmamış altın yüzeyi ile nanoküre kaplı altın yüzeyinin YPR eğrilerindeki rezonans açısı kayması ve SEM görüntüleri incelenerek gösterildi. Yine benzer çalışmalarda moleküler baskılama polimer yüzeylerinde uygulanmış fakat bağlanma testi öncesinde herhangi bir polimer stabilite testi gerçekleştirilmemiştir. Polimer tabakasının kararlılığı hedef molekülün bağlanma kapasitesini etkileyeceğinden önemli bir parametredir. Bu sebeple bu çalışmada, polimer şişme testi incelenerek kopolimerizasyon sistemimizdeki çapraz bağlayıcı monomer oranı optimize edildi. Son olarak kinetik ölçümler sırasında kullanılan çözücü testleri gerçekleştirildi. Etanol çözücüsü ve farklı oranlarda metanol-su karışımları ile çalışıldı. YPR ve kinetik ölçümleri takip edilen sistemler en yüksek reflektivite değişiminin metanol-su (1:1) karışımında elde edildiği gözlemlendi.

Bağlanma testleri ilk olarak baskılama işlemi uygulanmamış nanoparçacık içeren sensör sistemi ile gerçekleştirildi. Hem kinetik ölçümler hem de YPR eğrileri incelendikten sonra beklenildiği gibi seçici bağlanma görülmedi. Baskılanmış nanokürelerin testleri gerçekleştirildiğinde ise yalnızca analit molekülünün seçici bağlanma gösterdiği, 3 farklı analog molekülün (L-TRP, L-TRY ve L-PHE) ise tutunma meydana getirmediği elde edildi. Bir sonraki adım olarak kopolimer yüzeyine daha küçük yapıda bulunan peptit baskılama gerçekleştirilebilir.

Silika nanoparçacıkların yüzey modifikasyonu değiştirilerek kullanım amacı farklılaştırılabildiğini göstermek amacıyla, silika parçacıklar polietilen imin polimeri ile kaplanarak anyonik, sülfonik asit grubu ile kaplanarak katyonik ve 2-aminoetil metakrilat hidroklorür kaplanarak ise ağır metal olan Cr (IV) uzaklaştırılabildiği gösterildi. Bu tezde ayrıntılı olarak açıklanan anyonik boya uzaklaştırılması çeşitli parametreler göz önünde bulundurularak incelendi. Sistemlerin maksimum arıtma gösterdiği pH, sıcaklık, boya derişimi ve nanoparçacık derişimi gibi parametreleri optimize edilerek maksimum %98 uzaklaştırma gözlendi. Tekrar kullanılabilirliği incelenen sistemlerin en az 6 kere %50 üzerinde performans gösterdiği belirlendi.





KAYNAKLAR

- [1] **A.L. Hillberg, K.R. Brain, C.J. Allender**, (2005) Molecular imprinted polymer sensors: Implications for therapeutics, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57 1875–1889.
- [2] **B.P. Branchaud**, (2005) Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology Edited by Mingdi Yan (Portland State University) and Olof Ramström (Royal Institute of Technology, Stockholm) *J. Am. Chem. Soc.* 127, 14117–14118.
- [3] **G. Wulff**, (2002) Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers, *Chem. Rev.* 102 1–27.
- [4] **K. Haupt, K. Mosbach**, (2000) Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors, *Chem. Rev.* 100 2495–2504.
- [5] **D. Vaihinger, K. Landfester, I. Kräuter, H. Brunner, G.E.M. Tovar**, (2002) Molecularly imprinted polymer nanospheres as synthetic affinity receptors obtained by miniemulsion polymerisation, *Macromol. Chem. Phys.* 203 1965–1973.
- [6] **A. Poma, A.P.F. Turner, S.A. Piletsky**, (2010) Advances in the manufacture of MIP nanoparticles, *Trends Biotechnol.* 28 629–637.
- [7] **P. Sergey, T. Anthony**, *Molecular Imprinting of Polymers*, 2006.
- [8] **K. Yoshimatsu, K. Reimhult, A. Krozer, K. Mosbach, K. Sode, L. Ye**, (2007) Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications, *Anal. Chim. Acta.* 584 112–121.
- [9] **M.J. Whitcombe, N. Kirsch, I.A. Nicholls**, (2014) Molecular imprinting science and technology: A survey of the literature for the years 2004-2011, *J. Mol. Recognit.* 27 297–401.
- [10] **C. Alvarez-lorenzo, C. Angel**, *Handbook of Molecularly Imprinted Polymers*, 2013.
- [11] **B. Sellergren**, (2000) Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry.
- [12] **M. Komiyama, T. Takeuchi, T. Mukawa, H. Asanuma**, (2003) *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*,.
- [13] **Q. Zhu, X. Li, Y. Xiao, Y. Xiong, S. Wang, C. Xu, J. Zhang, X. Wu**, (2017) Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer via Visible Light Activated RAFT Polymerization in Aqueous Media at Room Temperature for Highly Selective Electrochemical Assay of Glucose, *Macromol. Chem. Phys.* 218 1–8.
- [14] **Y.K. Sun, M. Jia, J. Yang, Y.P. Huang, Z.S. Liu, H.A. Aisa**, (2018) A strategy of utilizing Zn(II) as metallic pivot in room temperature ionic liquid to prepare molecularly imprinted polymers for compound with intramolecular hydrogen bonds, *Anal. Bioanal.*

Chem. 410 349–359.

- [15] **B. Sellergren, M. Lepist, K. Mosbach**, (1988) Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions. NMR and chromatographic studies on the nature of recognition, *J. Am. Chem. Soc.* 110 5853–5860.
- [16] **A.S. G. Wulff, W. Vesper, R. Grobe-Einsler**, (1977) Enzyme-Analogue Built Polymers, *Makromol. Chem.* 178 2799–2816.
- [17] **K. Arshady, R. ; Mosbach**, (1981) Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization, *Macro Chem Phys.* 692 687–692.
- [18] **F. Science, A. Chemistry**, (2013) Molecularly Imprinted Polymers and Their Synthesis by Different Methods, 21 145–150.
- [19] **M.J. Garcia-Soto, K. Haupt, C. Gonzato**, (2017) Synthesis of molecularly imprinted polymers by photo-iniferter polymerization under visible light, *Polym. Chem.* 8 4830–4834.
- [20] **R. Naraprawatphong, A. Kawamura, T. Miyata**, (2018) Preparation of molecularly imprinted hydrogel layer SPR sensor chips with lectin-recognition sites via SI-ATRP, *Polym. J.* 50 261–269.
- [21] **Z. Adali-kaya, B. Tse, S. Bui, A. Falcimaigne-cordin, K. Haupt**, (2015) Molecularly Imprinted Polymer Nanomaterials and Nanocomposites : Atom-Transfer Radical Polymerization with Acidic Monomers *Angewandte*, 1–5.
- [22] **H. Huang, C. Zhang, L. Liu, Z. Wang**, (2017) Synthesis and characterization of a novel quercetin magnetic molecularly imprinted polymer via reversible addition fragmentation chain transfer strategy, *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* 54 446–451.
- [23] **E. Yildirim, T. Caykara**, (2018) Ibuprofen-imprinted ultrathin poly[N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide] films, *J.App.Poly.Sci.* 1351–7.
- [24] **A.P.F. Turner**, (2015) Molecularly Imprinted Catalysts.
- [25] **M. Czaun, A.K. Mallik, M. Takafuji, H. Ihara**, (2011) Surface-initiated ATRP as a versatile method to hybrid materials,.
- [26] **K. Matyjaszewski, T.P. Davis**, (2002) Handbook of Radical Polymerization,.
- [27] **C.H. Lu, W.H. Zhou, B. Han, H.H. Yang, X. Chen, X.R. Wang**, (2007) Surface-imprinted core-shell nanoparticles for sorbent assays, *Anal. Chem.* 79 5457–5461.
- [28] **C. Barner-Kowollik**, (2008) Handbook of RAFT Polymerization,.
- [29] **G. Conzatti, S. Cavalie, C. Combes, J. Torrisani, N. Carrere, A. Tourrette**, (2017) PNIPAM grafted surfaces through ATRP and RAFT polymerization: Chemistry and bioadhesion, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 151 143–155.
- [30] **M.R. Halhalli**, (2013) Functional Porous Polymer Beads Nanostructured by Imprinting, Layer by Layer Grafting and Templated Synthesis (*doktora tezi*).
- [31] **J. Prachar, I. Novak, A. Kleinova, P. Gemeiner, M. Omastova, S. Chmela**, (2016) Plasma grafting of polypropylene with organosilanes and its alkylamine treatment, *Vacuum.* 127 38–44.
- [32] **M.X. Hu, L.S. Wan, Z.S. Fu, Z.Q. Fan, Z.K. Xu**, (2007) Construction of glycosylated surfaces for poly(propylene) beads with a photoinduced grafting/chemical reaction sequence, *Macromol. Rapid Commun.* 28 2325–2331.
- [33] **Q. Jiang, S. Wang, S. Xu**, (2018) Preparation and characterization of water

- dispersible carbon black grafted with polyacrylic acid by high-energy electron beam irradiation, *J. Mater. Sci.* 53 6106–6115.
- [34] **M. Baum, W.J. Brittain**, (2002) Synthesis of Polymer Brushes on Silicate Substrates via Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Technique, *JACSociety*. 610–615.
- [35] **T. Zhou, Y. Zhu, X. Li, X. Liu, K.W.K. Yeung, S. Wu, X. Wang, Z. Cui, X. Yang, P.K. Chu**, (2016) Surface functionalization of biomaterials by radical polymerization, *Prog. Mater. Sci.* 83 191–235.
- [36] **J. Erdőssy, E. Kassa, A. Farkas, V. Horváth**, (2017) Enzymatic digestion as a tool for removing proteinaceous templates from molecularly imprinted polymers, *Anal. Methods*..
- [37] **D. Gao, Z. Zhang, M. Wu, C. Xie, G. Guan, D. Wang**, (2007) A surface functional monomer-directing strategy for highly dense imprinting of TNT at surface of silica nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.* 129 7859–7866.
- [38] **E. Meyer, H.G. Braun**, (2000) Controlled dewetting processes on microstructured surfaces - A new procedure for thin film microstructuring, *Macromol. Mater. Eng.* 276–277 44–50.
- [39] **A. Sun, J. Chai, T. Xiao, X. Shi, X. Li, Q. Zhao, D. Li, J. Chen**, (2018) Development of a selective fluorescence nanosensor based on molecularly imprinted-quantum dot optosensing materials for saxitoxin detection in shellfish samples, *Sensors Actuators, B Chem.* 258 408–414.
- [40] **S.M. Amininasab, P. Holakooei, Z. Shami, M. Hassanzadeh**, (2018) Preparation and evaluation of functionalized goethite nanorods coated by molecularly imprinted polymer for selective extraction of bisphenol A in aqueous medium, *J. Polym. Res.* 25.
- [41] **X. Kong, R. Gao, X. He, L. Chen, Y. Zhang**, (2012) Synthesis and characterization of the core-shell magnetic molecularly imprinted polymers (Fe₃O₄@MIPs) adsorbents for effective extraction and determination of sulfonamides in the poultry feed, *J. Chromatogr. A.* 1245 8–16.
- [42] **A. Turco, S. Corvaglia, E. Mazzotta, P.P. Pompa, C. Malitesta**, (2018) Preparation and characterization of molecularly imprinted mussel inspired film as antifouling and selective layer for electrochemical detection of sulfamethoxazole, *Sensors Actuators, B Chem.* 255 3374–3383.
- [43] **H.H. Yang, S.Q. Zhang, F. Tan, Z.X. Zhuang, X.R. Wang**, (2005) Surface molecularly imprinted nanowires for biorecognition, *J. Am. Chem. Soc.* 127 1378–1379.
- [44] **R. Ahmad, N. Félidj, L. Boubekur-Lecaque, S. Lau-Truong, S. Gam Derouich, P. Decorse, A. Lamouri, C. Mangeney**, (2015) Water-soluble plasmonic nanosensors with synthetic receptors for label-free detection of folic acid, *Chem. Commun.* 51 9678–9681.
- [45] **M.H. Lee, J.L. Thomas, Y.L. Chen, C.F. Lin, H.H. Tsai, Y.Z. Juang, B. Da Liu, H.Y. Lin**, (2013) Optical sensing of urinary melatonin with molecularly imprinted poly(ethylene-co-vinyl alcohol) coated zinc oxide nanorod arrays, *Biosens. Bioelectron.* 47 56–61.
- [46] **S. Grimm, A. Lange, D. Enke, M. Steinhart**, (2012) Imprinting macropore

- arrays in mesoporous silica monoliths, *J. Mater. Chem.* 22 9490.
- [47] **H.H. Wang, X.J. Chen, W.T. Li, W.H. Zhou, X.C. Guo, W.Y. Kang, D.X. Kou, Z.J. Zhou, Y.N. Meng, Q.W. Tian, S.X. Wu,** (2018) ZnO nanotubes supported molecularly imprinted polymers arrays as sensing materials for electrochemical detection of dopamine, *Talanta.* 176 573–581.
- [48] **Y. Lv, Y. Qin, F. Svec, T. Tan,** (2016) Molecularly imprinted plasmonic nanosensor for selective SERS detection of protein biomarkers, *Biosens. Bioelectron.* 80 433–441.
- [49] **P. Ma, Z. Zhou, J. Dai, L. Qin, X. Ye, X. Chen, J. He, A. Xie, Y. Yan, C. Li,** A biomimetic *Setaria viridis*-inspired imprinted nano-adsorbent: green synthesis and application to the highly selective and fast removal of sulfamethazine, *RSC*
- [50] **K. Tsukagoshi, M. Maeda, M. Takagi,** (1992) Original Papers Template Complexation Polymerization Behavior Technique of Resins a *Novel*, 8.
- [51] **X. Jia, H. Li, J. Luo, Q. Lu, Y. Peng, L. Shi, L. Liu, S. Du, G. Zhang, L. Chen,** (2012) Rational design of core-shell molecularly imprinted polymer based on computational simulation and Doehlert experimental optimization: Application to the separation of tanshinone IIA from *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *Anal. Bioanal. Chem.* 403 2691–2703.
- [52] **M.J. Gómez, M. Petrović, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló,** (2006) Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters, *J. Chromatogr. A.* 1114 224–233.
- [53] **A. Afzal, S. Feroz, N. Iqbal, A. Mujahid, A. Rehman,** (2016) A collaborative effect of imprinted polymers and Au nanoparticles on bioanalogous detection of organic vapors, *Sensors Actuators, B Chem.* 231 431–439.
- [54] **N. Iqbal, A. Afzal, A. Mujahid,** (2014) Layer-by-layer assembly of low temperature-imprinted poly(methacrylic acid)/gold nanoparticle hybrids for gaseous formaldehyde mass sensing, *RSC Adv.* 4 43121–43130.
- [55] **M. Hussain, K. Kotova, P.A. Lieberzeit,** (2016) Molecularly imprinted polymer nanoparticles for formaldehyde sensing with QCM, *Sensors* 16.
- [56] **L. Feng, Y. Liu, X. Zhou, J. Hu,** (2005) The fabrication and characterization of a formaldehyde odor sensor using molecularly imprinted polymers, *J. Colloid Interface Sci.* 284 378–382.
- [57] **M. Panagiotopoulou, Y. Salinas, S. Beyazit, S. Kunath, L. Duma, E. Prost, A.G. Mayes, M. Resmini, B. Tse Sum Bui, K. Haupt,** (2016) Molecularly Imprinted Polymer Coated Quantum Dots for Multiplexed Cell Targeting and Imaging, *Angew. Chemie*, 55.
- [58] **A. Ben Aissa, A. Herrera-Chacon, R.R. Pupin, M.D.P.T. Sotomayor, M.I. Pividori,** (2017) Magnetic molecularly imprinted polymer for the isolation and detection of biotin and biotinylated biomolecules, *Biosens. Bioelectron.* 88 101–108.
- [59] **R.J. Uzuriaga-Sánchez, S. Khan, A. Wong, G. Picasso, M.I. Pividori,**

- M.D.P.T. Sotomayor**, (2016) Magnetically separable polymer (Mag-MIP) for selective analysis of biotin in food samples, *Food Chem.* 190 460–467.
- [60] **K. Eersels, P. Lieberzeit, P. Wagner**, (2016) A Review on Synthetic Receptors for Bioparticle Detection Created by Surface-Imprinting Techniques-From Principles to Applications., *ACS Sensors.* 1 1171–1187.
- [61] **D.R. Kryscio, N.A. Peppas**, (2012) Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers, *Acta Biomater.* 8 461–473.
- [62] **K.E. Sapsford, C. Bradburne, J.B. Delehanty, I.L. Medintz**, (2008) Sensors for detecting biological agents, *Mater. Today.* 11 38–49.
- [63] **M. Maiga, I. Yazgan, V.M. Kariuki, D.O. Demirkol, O.A. Sadik, S. Timur**, (2018) Brilliant green sequestered poly(amic) acid film for dual-mode detection: Fluorescence and electrochemical enzymatic biosensor, *Sensors Actuators, B Chem.* 256 71–78.
- [64] **L. Li, C. Niu, T. Li, Y. Wan, Y. Zhou, H. Wang, R. Yuan, P. Liao**, (2018) Ultrasensitive electrochemiluminescence biosensor for detection of laminin based on DNA dendrimer-carried luminophore and DNA nanomachine-mediated target recycling amplification, *Biosens. Bioelectron.* 101 206–212.
- [65] **H. Liu, Y. Bai, J. Qin, H. Wang, Y. Wang, Z. Chen, F. Feng**, (2018) Exonuclease I assisted fluorometric aptasensor for adenosine detection using 2-AP modified DNA, *Sensors Actuators B Chem.* 256 413–419.
- [66] **G. Wang, X. Su, Q. Xu, G. Xu, J. Lin, X. Luo**, (2018) Antifouling aptasensor for the detection of adenosine triphosphate in biological media based on mixed self-assembled aptamer and zwitterionic peptide, *Biosens. Bioelectron.* 101 129–134.
- [67] **L.T. Berezina-Malcolm, G. Mann, A.E. Franks**, (2015) Environmental Sensing of Heavy Metals Through Whole Cell Microbial Biosensors: A Synthetic Biology Approach, *ACS Synth. Biol.* 4 535–546.
- [68] **M. Held, W. Schuhmann, K. Jahreis, H.L. Schmidt**, (2002) Microbial biosensor array with transport mutants of Escherichia coli K12 for the simultaneous determination of mono- and disaccharides, *Biosens. Bioelectron.* 17 1089–1094.
- [69] **H. Yang, H. Zhang, X.Y. Zhu, S. Da Chen, L. Liu, D. Pan**, (2017) Determination of tributyltin in seafood based on magnetic molecularly imprinted polymers coupled with high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Food Qual.* 20-17.
- [70] **E. Turiel, A. Martin-Esteban**, (2005) Molecular imprinting technology in capillary electrochromatography, *J. Sep. Sci.* 28 719–728.
- [71] **H. Sun, J.P. Lai, Y.S. Fung**, (2014) Simultaneous determination of gaseous and particulate carbonyls in air by coupling micellar electrokinetic capillary chromatography with molecular imprinting solid-phase extraction, *J. Chromatogr. A.* 1358 303–308.
- [72] **S. Alexander, P. Baranendharan, S. Balasubrahmanyam, S. Ramaprabhu**, (2017) Modified graphene based molecular imprinted polymer for electrochemical non-enzymatic cholesterol biosensor, *Eur. Polym. J.* 86 106–116.

- [73] **G. Wang, C. Wang, S. Sun**, (2018) An optical waveguide sensor based on mesoporous silica films with a comparison to surface plasmon resonance sensors, *Sensors Actuators, B Chem.* 255 3400–3408.
- [74] **F.W. Scheller, U. Wollenberger, A. Warsinke, F. Lisdat**, (2001) Research and development in biosensors, *Curr. Opin. Biotechnol.* 12 35–40.
- [75] **J. Wang, G. Rivas, X. Cai, E. Palecek, P. Nielsen, H. Shiraishi, N. Dontha, D. Luo, C. Parrado, M. Chicharro, P.A.M. Farias, F.S. Valera, D.H. Grant, M. Ozsoz, M.N. Flair**, (1997) DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A review, *Anal. Chim. Acta.* 347 1–8.
- [76] **S.F. D'Souza**, (2001) Microbial biosensors, *Biosens. Bioelectron.* 16 337–353.
- [77] **D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, E. Reimhult**, (2008) Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures, *Sensors.* 8 1400–1458.
- [78] **N.J. Ronkainen, H.B. Halsall, W.R. Heineman**, (2010) Electrochemical biosensors, *Chem. Soc. Rev.* 39 1747.
- [79] **D.R. Thévenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson**, (2001) Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification, *Biosens. Bioelectron.* 16 121–131.
- [80] **P. Yanez Sedeno, S. Campuzano, J.M. Pingarron**, (2016) Magnetic particles coupled to disposable screen printed transducers for electrochemical biosensing, *Sensors.* 16.
- [81] **A. Tiwari, L. Uzun**, (2016) Advanced molecularly imprinting materials,.
- [82] **V.H. and D.S.P.A. Cesar Andrade, Maria Danielly Oliveira, Tanize Faulin**, (2018) Biosensors for detection of Low-Density Lipoprotein and its modified forms, *Biosens. Heal. Environ. Biosecurity.* 13.
- [83] **A. Afzal, A. Mujahid, R. Schirhagl, S. Bajwa, U. Latif, S. Feroz**, (2017) Gravimetric Viral Diagnostics: QCM Based Biosensors for Early Detection of Viruses, *Chemosensors.* 5, 7.
- [84] **G. Sener, E. Ozgur, E. Yilmaz, L. Uzun, R. Say, A. Denizli**, (2010) Quartz crystal based nanosensor for lysozyme detection with lysozyme imprinted nanoparticles, *Biosens. Bioelectron.* 26 815–821.
- [85] **R.B. Pernites, R.R. Ponnappati, R.C. Advincula**, (2010) Surface plasmon resonance (SPR) detection of theophylline via electropolymerized molecularly imprinted polythiophenes, *Macromol.* 43 9724–9735.
- [86] **T.P. Vikinge, K.M. Hansson, P. Sandström, B. Liedberg, T.L. Lindahl, I. Lundström, P. Tengvall, F. Höök**, (2000) Comparison of surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance in the study of whole blood and plasma coagulation., *Biosens. Bioel.* 15 605–613.
- [87] **Y. Hoshino, T. Kodama, Y. Okahata, K.J. Shea**, (2008) Peptide Imprinted Polymer Nanoparticles: A Plastic Antibody, *Jacs.* 4–8.
- [88] **W.W. Regnan**, (1902) On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum, *Proc. Phys. Soc* 18, 269.
- [89] **A. Otto**, (1968) Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection, *Zeitschrift Für Phys. A Hadron. Nucl.* 216 398–410.
- [90] **E. Kretschmann and H. Raether**, (1968) Radiative decay of nonradiative plasmons excited by light, *Z. Naturforsch. A.* 23 2135–2136.
- [91] **R. Colombelli, K. Srinivasan, M. Troccoli, O. Painter, C.F. Gmachl, D.M. Tennant, A.M. Sergent, D.L. Sivco, A.Y. Cho, F. Capasso**, (2003)

Quantum Cascade, 302 1374–1378.

- [92] **H. Ditlbacher, A. Leitner, J.R. Krenn, F.R. Aussenegg, B. Lamprecht,** (2009) Metal Nanoparticles for Spectrally Coded Optical Data Storage, *Opt. Photonics News*. 11, 43.
- [93] **J. Homola,** (2003) Present and future of surface plasmon resonance biosensors, *Anal. Bioanal. Chem.* 377 528–539.
- [94] **Suherman, M.D.M. Hossain, K. Morita, T. Kawaguchi,** (2018) Effect of metal film, thickness and various solvents on the SPR biosensor sensitivity for illegal compound detection, *Orient. J. Chem.* 34 1355–1361.
- [95] **H. Roos, R. Karlsson, H. Nilshans, A. Persson,** (1998) Thermodynamic analysis of protein interactions with biosensor technology, *J. Mol. Recognit.* 11, 204–210.
- [96] **X. Hong, E.A.H. Hall,** (2012) Contribution of gold nanoparticles to the signal amplification in SPR, *Analyst* 137, 4712.
- [97] **K. Aslan, C.D. Geddes,** (2009) Directional surface plasmon coupled luminescence for analytical sensing applications: Which metal, what wavelength, what observation angle, *Anal. Chem.* 81, 6913–6922.
- [98] **Y. Yu, H. Frey,** (2015) Controllable Nonspecific Protein Adsorption by Charged Hyperbranched Polyglycerol Thin Films, *Langmuir* 31 13101–13106.
- [99] **J. Dostálek, A. Kasry, W. Knoll,** (2007) Long range surface plasmons for observation of biomolecular binding events at metallic surfaces, *Plasmonics* 2 97–106.
- [100] **C.J. Huang, J. Dostalek, W. Knoll,** (2010) Long range surface plasmon and hydrogel optical waveguide field-enhanced fluorescence biosensor with 3D hydrogel binding matrix: On the role of diffusion mass transfer, *Biosens. Bioelectron.* 26 1425–1431.
- [101] **C. Huang, J. Dostalek, W. Knoll,** (2011) Long range surface plasmon enhanced fluorescence spectroscopy biosensor for ultrasensitive detection of *E. coli* O157 : H7, 1–5.
- [102] **A. Gitsas, T.D. Lazzara, B. Yameen, M. Steinhart, W. Knoll, H. Duran,** (2011) Designing polymeric nanorod arrays for optical waveguide-based biosensors, *Phys. Status Solidi Curr. Top. Solid State Phys.* 8 3179–3182.
- [103] **A. Gitsas, B. Yameen, T.D. Lazzara, M. Steinhart, H. Duran, W. Knoll,** (2010) Polycyanurate nanorod arrays for optical-waveguide-based biosensing, *Nano Lett.* 10, 2173–2177.
- [104] **K. Schwirn, W. Lee, R. Hillebrand, M. Steinhart, K. Nielsch, U. Gösele,** (2008) Self-ordered anodic aluminum oxide formed by H₂SO₄ hard anodization, *ACS Nano* 2, 302–310.
- [105] **L. Noirez, C. Stillings, J.F. Bardeau, M. Steinhart, S. Schlitt, J.H. Wendorff, G. Pépy,** (2013) What happens to polymer chains confined in rigid cylindrical inorganic (AAO) nanopores, *Macromolecules.* 46, 4932–4936.
- [106] **A.W. Snow,** (1994) The synthesis, manufacture and characterization of cyanate ester monomers, *Chem. Technol. Cyanate Ester Resins.* 7–57.
- [107] **E. Grigat, R. Pütter,** (1967) Synthesis and Reactions of Cyanic Esters, *Angew. Chemie.* 6, 206–218.

- [108] **B. Yameen, H. Duran, A. Best, U. Jonas, M. Steinhart, W. Knoll**, (2008) Polycyanurate thermoset networks with high thermal, mechanical, and hydrolytic stability based on liquid multifunctional cyanate ester monomers with bisphenol A and AF units, *Macromol. Chem. Phys.* 2091673–1685.
- [109] **W. Lee, R. Ji, U. Gösele, K. Nielsch**, (2006) Fast fabrication of long-range ordered porous alumina membranes by hard anodization, *Nat. Mater.* 5 741–747.
- [110] **N.C. Dyck, R.C. Denomme, P.M. Nieva**, (2011) Effective medium properties of arbitrary nanoparticle shapes in a localized surface plasmon resonance sensing layer, *J. Phys. Chem. C* 115, 15225–15233.
- [111] **V.A. Markel**, (2016) Introduction to the Maxwell Garnett approximation: tutorial, *J. Opt. Soc. Am. A* 33, 1244.
- [112] **A.A. Lazarides, K.L. Kelly, T.R. Jensen, G.C. Schatz**, (2000) Optical properties of metal nanoparticles and nanoparticle aggregates important in biosensors, *Theochem-Journal Mol. St.* 529 59–63.
- [113] **D.J.G. Mainz, K. Hang, A. Lau**, (2008) Nanoscale Effects and Applications of Self-Organized Nanostructured Thin Films Dissertation.
- [114] **J. Martín, J. Maiz, J. Sacristan, C. Mijangos**, (2012) Tailored polymer-based nanorods and nanotubes by “template synthesis”: From preparation to applications, *Polymer* 53, 1149–1166.
- [115] **Y. Matsui, K. Nishio, H. Masuda**, (2006) Highly ordered anodic porous alumina with 13-nm hole intervals using a 2D array of monodisperse nanoparticles as a template, *Small* 2, 522–525.
- [116] **K. Choi, S.H. Park, Y.M. Song, Y.T. Lee, C.K. Hwangbo, H. Yang, H.S. Lee**, (2010) Nano-tailoring the surface structure for the monolithic high-performance antireflection polymer film, *Adv. Mater.* 22, 3713–3718.
- [117] **Y. Zhang, N. Kohler, M. Zhang**, (2002) Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake, *Biomaterials* 23, 1553–1561.
- [118] **S.G. Patching**, (2014) Surface plasmon resonance spectroscopy for characterisation of membrane protein-ligand interactions and its potential for drug discovery, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 1838, 43–55.
- [119] **R. Bakhtiar**, (2013) Surface plasmon resonance spectroscopy: A versatile technique in a biochemist’s toolbox, *J. Chem. Educ.* 90, 203–209.
- [120] **T. Liebermann, W. Knoll**, (2000) Surface-plasmon field-enhanced fluorescence spectroscopy, *Colloids Surfaces A Physicochem.* 171, 115–130.
- [121] **L.C. Oliveira, C.S. Moreira, H. Neff, A.M.N. Lima**, (2016) Optical Properties and Instrumental Performance of thin Noble Metal (Cu, Au, Ag) Films Near the Surface Plasmon Resonance, *Procedia Eng.* 168, 834–837.
- [122] RES-TEC - Resonant Technologies - Explore the Power of Evanescent Fields, <http://www.res-tec.de/applications.html> (March 12, 2017).
- [123] **Y.T. Ye, X.H. Ma, Z.L. Xu, Y. Zhang**, (2014) Theophylline molecular imprinted composite membranes prepared on a ceramic hollow fiber substrate, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53, 346–354.
- [124] **S. Sheybani, T. Hosseinifar, M. Abdouss, S. Mazinani**, (2015) Mesoporous molecularly imprinted polymer nanoparticles as a sustained release

- system of azithromycin, *RSC Adv.* 5, 98880–98891.
- [125] **H. Duran, B. Yameen, M. Geuss, M. Kappl, M. Steinhart, W. Knoll,** (2013) Enhanced interfacial rigidity of 1D thermoset nanostructures by interface-induced liquid crystallinity, *J. Mater. Chem. C* 1 7758–7765.
- [126] **R. Yasukuni, K. Ouhenia-ouadahi, L. Boubekur-lecaque, N. Felidj,** (2013) Silica Coated Gold Nanorod Arrays for Nanoplasmonics Devices,.
- [127] **F. Terzi, J. Pellicciari, C. Zanardi, L. Pigani, A. Viinikanoja, J. Lukkari, R. Seeber,** (2013) Graphene-modified electrode. Determination of hydrogen peroxide at high concentrations, *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 3579–3586.
- [128] **H. Jang, Y. Kim, D. Min,** (2017) Nanoworms and anisotropic structure based, *Chem. Commun.* 53, 1385–1388.
- [129] **D. Lin, Z. Wu, S. Li, W. Zhao, C. Ma, J. Wang, Z. Jiang, Z. Zhong, Y. Zheng, X. Yang,** (2017) Large-Area Au-Nanoparticle-Functionalized Si Nanorod Arrays for Spatially Uniform Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, *ACS Nano*. 11 1478–1487.
- [130] **F. Steps, S.S. Raman, S. During,** (2010) S. Experiments, Archimer First Steps of in Situ Surface-Enhanced Raman Scattering During, *Appl. Spectrosc.* 64, 1086–1093.
- [131] **J. Fan, Y. Zhao,** (2008) Gold-Coated Nanorod Arrays as Highly Sensitive Substrates for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy 14172–14175.
- [132] **Z. Huang, G. Meng, B. Chen, C. Zhu, F. Han, X. Hu, X. Wang,** (2016) Surface-Enhanced Raman Scattering from Au-Nanorod Arrays with Sub-5-nm Gaps Stuck Out of an AAO Template, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 16 934–938.
- [133] **A. Martín, C. Schopf, A. Pescaglini, J.J. Wang, D. Iacopino,** (2014) Facile formation of ordered vertical arrays by droplet evaporation of Au nanorod organic solutions, *Langmuir* 30, 10206–10212.
- [134] **K. Park, M.S. Hsiao, Y.J. Yi, S. Izor, H. Koerner, A. Jawaid, R.A. Vaia,** (2017) Highly Concentrated Seed-Mediated Synthesis of Monodispersed Gold Nanorods, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9, 26363–26371.
- [135] **M. Keshavarz, N. Ahmad,** (2013) Characterization and Modification of Mesoporous Silica Nanoparticles Prepared by Sol-Gel, *J. Nanoparticles* 20-13.
- [136] **A. Farrukh, F. Ashraf, A. Kaltbeitzel, X. Ling, M. Wagner, H. Duran, A. Ghaffar, H. ur Rehman, S.H. Parekh, K.F. Domke, B. Yameen,** (2015) Polymer brush functionalized SiO₂ nanoparticle based Nafion nanocomposites: a novel avenue to low-humidity proton conducting membranes, *Polym. Chem.* 6 5782–5789.
- [137] **S. Nayab, A. Farrukh, Z. Oluz, E. Tuncel, S.R. Tariq, H.U. Rahman, K. Kirchhoff, H. Duran, B. Yameen,** (2014) Design and fabrication of branched polyamine functionalized mesoporous silica: An efficient absorbent for water remediation, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 6, 4408–4417.
- [138] **M.M. Khani, Z.M. Abbas, B.C. Benicewicz,** (2017) Well-defined polyisoprene-grafted silica nanoparticles via the RAFT process, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 55, 1493–1501.
- [139] **J.F. De Conto, M.R. Oliveira, R.J. Oliveira, K. V. Campos, E.W. De**

- Menezes, E. V. Benvenuti, E. Franceschi, C.C. Santana, S.M. Egues,** (2017) Synthesis of silica modified with 1-methylimidazolium chloride by sol-gel method: A comparison between microwave radiation-assisted and conventional methods, *J. Non. Cryst. Solids.* 471, 209–214.
- [140] **S.B. Bae, W.S. Jung, J.K. Kook, S. Lee,** (2017) Synthesis and Characterization of Chitosan-Coated Hydrogel Composites for an Efficient, 178001–8006.
- [141] **C. Cropper, N. Mitina, O. Klyuchivska, K. Harhay, R. Stoika, V. Glazunova, Z. Nadashkevich, O. Hevus, Y.Z. Khimyak, A. Zaichenko,** (2018) Luminescent SiO₂ nanoparticles for cell labelling: Combined water dispersion polymerization and 3D condensation controlled by oligoperoxide initiator, *Eur. Polym. J.* 103, 282–292.
- [142] **H.J. Kim, I.S. Bae, S.J. Cho, J.H. Boo, B.C. Lee, J. Heo, I. Chung, B. Hong,** (2012) Synthesis and characteristics of NH₂-functionalized polymer films to immobilize DNA molecules, *Nanoscale Res. Lett.* 7, 1–17.
- [143] **W. Zhang, X.J. Luo, L.N. Niu, H.Y. Yang, C.K.Y. Yiu, T. Da Wang, L.Q. Zhou, J. Mao, C. Huang, D.H. Pashley, F.R. Tay,** (2015) Biomimetic intrafibrillar mineralization of type I collagen with intermediate precursors-loaded mesoporous carriers, *Sci. Rep.* 5.
- [144] **Y. Liu, J. He, J. Xu, D. Fan, W. Tang, Y. Yang,** (2005) Thermal decomposition of cumyl dithiobenzoate, *Macromolecules* 38, 10332–10335.
- [145] **G. Guan, B. Liu, Z. Wang, Z. Zhang,** (2008) Imprinting of molecular recognition sites on nanostructures and its applications in chemosensors, *Sensors.* 8, 8291–8320.
- [146] **A. Karatza, S. Pispas,** (2018) Glycol Methacrylate Thermoresponsive Block Copolymers by RAFT Polymerization, 1–10.
- [147] **S. Lee, H. Kim, S. Chae, B.H. Sohn,** (2015) Diblock copolymer micelles as surface-functionalized particles and direct decoration of nanoparticles on their surface, *Polym. (United Kingdom)* 61, 15–19.
- [148] **Y. Liu, X. Dai, S. Mallawaarachchi, H. Hapuarachchi, Q. Shi, D. Dong, S.H. Thang, M. Premaratne, W. Cheng,** (2017) Poly(N-isopropylacrylamide) capped plasmonic nanoparticles as resonance intensity-based temperature sensors with linear correlation, *J. Mater. Chem. C.* 5 10926–10932.
- [149] **Y. Ishigaki, H. Mori,** (2018) Synthesis of poly(chloroprene)-based block copolymers by RAFT-mediated emulsion polymerization, *Polym. (United Kingdom).* 140, 198–207.
- [150] **R. Takayama, A. Yamada, K. Fuchibe, J. Ichikawa,** (2017) Synthesis of sulfanylated difluoroalkenes: Electrophilic difluoromethylideneation of dithioesters with difluorocarbene, *Org. Lett.* 19, 5050–5053.
- [151] **H. Niu, Y. Yang, H. Zhang,** (2015) Efficient one-pot synthesis of hydrophilic and fluorescent molecularly imprinted polymer nanoparticles for direct drug quantification in real biological samples, *Biosens. Bioelectron.* 74, 440–446.
- [152] **J. Christmann, A. Ibrahim, V. Charlot, C. Croutxé-Barghorn, C. Ley, X. Allonas,** (2016) Elucidation of the Key Role of [Ru(bpy)₃]²⁺ in Photocatalyzed RAFT Polymerization, *Chem Phys Chem.* 17, 2309–2314.

- [153] **M. Titirici, R. V September, V. Re, M. Recci, V. December**, (2006) Thin Molecularly Imprinted Polymer Films via Reversible Addition - Fragmentation Chain Transfer Polymerization, 2004, 1773–1779.
- [154] **F. Kolarov, K. Niedergall, M. Bach, G.E.M. Tovar, G. Gauglitz**, (2012) Optical sensors with molecularly imprinted nanospheres: A promising approach for robust and label-free detection of small molecules, *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 3245–3252.
- [155] **M. Lehmann, M. Dettling, H. Brunner, G.E.M. Tovar**, (2004) Affinity parameters of amino acid derivative binding to molecularly imprinted nanospheres consisting of poly[(ethylene glycol dimethacrylate)-co-(methacrylic acid)], *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 808 43–50.
- [156] **N. Sharma, C. Petri, U. Jonas, M. Bach, G. Tovar, K. Mrkvova, M. Vala, J. Homola, W. Knoll, J. Dostalek**, (2014) Molecularly Imprinted Polymer Waveguides for Direct Optical Detection of Low-Molecular-Weight Analytes, *Macromol. Chem. Phys.* 215, 2295–2304.
- [157] **M.R. Halhalli, B. Sellergren**, (2015) Insights into the formation, structural properties and performance of RAFT polymerized L-phenylalanine anilide imprinted polymers, *Polym. Chem.* 6 7320–7332.
- [158] **M.R. Halhalli, B. Sellergren**, (2013) Cover and uncover: chiral switching exploiting templating and layer-by-layer grafting, *Chem. Commun.* 49, 7111.
- [159] **G. Vasapollo, R. Del Sole, L. Mergola, M.R. Lazzoi, A. Scardino, S. Scorrano, G. Mele**, (2011) Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective, *Int. J. Mol. Sci.* 12, 5908–5945.
- [160] **L. Name, F. Name, O. Training, P. Training, C. Darin, R.O. Training, M. Kimberly, G. Deepa, E. Board, E. Principal, I. Primary, F. Systems, E.B. Study, N.** (2014) Co-investigator, Surface analysis of polymers by XPS and static SIMS,.
- [161] **C. Dai, S. Wang, Y. Li, M. Gao, Y. Liu, Y. Sun, M. Zhao**, (2015) The first study of surface modified silica nanoparticles in pressure-decreasing application, *RSC Adv.* 5, 61838–61845.
- [162] **R. Behnam, H. Roghani-Mamaqani, M. Salami-Kalajahi**, (2018) Incorporation of silica nanoparticles and polyurethane into hybrid composites for increase of char residue, *J. Therm. Anal. Calorim.* 4.
- [163] **X. Ren, Y. Song, A. Liu, J. Zhang, P. Yang, J. Zhang, G. Yuan, M. An, H. Osgood, G. Wu**, (2015) Role of polyethyleneimine as an additive in cyanide-free electrolytes for gold electrodeposition, *RSC Adv.* 5, 64806–64813.
- [164] **L. Diguez, D. Caballero, J. Calderer, M. Moreno, E. Martinez, J. Samitier**, (2012) Optical gratings coated with thin Si₃N₄ layer for efficient immunosensing by optical waveguide lightmode spectroscopy, *Biosensors.* 2, 114–126.
- [165] **D. Lakayan, J. Tuppurainen, M. Albers, M.J. van Lint, D.J. van Iperen, J.J.A. Weda, J. Kuncova-Kallio, G.W. Somsen, J. Kool**, (2018) Angular scanning and variable wavelength surface plasmon resonance allowing free sensor surface selection for optimum material- and bio-sensing, *Sensors Actuators, B Chem.* 259 972–979.

- [166] **G. Qiu, S.P. Ng, C.M.L. Wu**, (2018) Bimetallic Au-Ag alloy nanoislands for highly sensitive localized surface plasmon resonance biosensing, *Sensors Actuators, B Chem.* 265, 459–467.
- [167] **Z. Li, M.R. Narouz, K. Munro, B. Hao, C.M. Crudden, J.H. Horton, H. Hao**, (2017) Carboxymethylated Dextran-Modified N-Heterocyclic Carbene Self-Assembled Monolayers on Gold for Use in Surface Plasmon Resonance Biosensing, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 9, 39223–39234.
- [168] **G. Qiu, S.P. Ng, C.M.L. Wu**, (2018) Label-free surface plasmon resonance biosensing with titanium nitride thin film, *Biosens. Bioelectron.* 106, 129–135.
- [169] **A. Szeghalmi, E.B. Kley, M. Knez**, (2010) Theoretical and Experimental Analysis of the Sensitivity of Guided Mode Resonance *Sensors*, 21150–21157.
- [170] **J. Syamprasad, R. Narayanan, H. Takahashi, R. Jindal, A. Sandhu**, (2014) GMR-based PhC biosensor : FOM analysis and experimental studies GMR-based PhC Biosensor : *FOM Analysis Experimental Studies*, 26.
- [171] **S. Hong, T. Kang, J. Moon, S. Oh, J. Yi**, (2007) Surface plasmon resonance analysis of aqueous copper ions with amino-terminated self-assembled monolayers, *Colloids Surfaces A Physicochem.* 292, 264–270.
- [172] **E. Hutter, J.H. Fendler, D. Roy**, (2001) Surface plasmon resonance method for probing interactions in nanostructures: CdS nanoparticles linked to Au and Ag substrates by self-assembled hexanedithiol and aminoethanethiol monolayers, *J. Appl. Phys.* 90, 1977–1985.
- [173] **Q. Xiao, B. Zhou, S. Huang, F. Tian, H. Guan, Y. Ge, X. Liu, Z. He, Y. Liu**, (2009) Direct observation of the binding process between protein and quantum dots by insitu surface plasmon resonance measurements, *Nanotechnology.* 20.
- [174] **I. Moschetti, S. Cannistraro, A.R. Bizzarri**, (2017) Surface plasmon resonance sensing of biorecognition interactions within the tumor suppressor P53 network, *Sensors (Switzerland).* 17.
- [175] **L. Lu, R. Seenivasan, Y.C. Wang, J.H. Yu, S. Gunasekaran**, (2016) An Electrochemical Immunosensor for Rapid and Sensitive Detection of Mycotoxins Fumonisin B1 and Deoxynivalenol, *Electrochim. Acta.* 213 89–97.
- [176] **J.A. Melero, R. van Grieken, G. Morales**, (2006) Advances in the Synthesis and Catalytic Applications of Organosulfonic-Functionalized Mesoporous Materials, *Chem. Rev.* 106, 3790–3812.
- [177] **F. Tang, L. Li, D. Chen**, (2012) Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery, *Adv. Mater.* 24, 1504–1534.
- [178] **H. Sepehrian, J. Fasihi, M.K. Mahani**, (2009) Adsorption behavior studies of picric acid on mesoporous MCM-41, *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 6772–6775.
- [179] **Y.H. Ju, O.F. Webb, S. Dai, J.S. Lin, C.E. Barnes**, (2000) Synthesis and characterization of ordered mesoporous anion-exchange inorganic/organic hybrid resins for radionuclide separation, *Ind. Eng. Chem. Res.* 39 550–553.
- [180] **T. Suteewong, H.J. Queisser**, (2013) J. Michl, P. Jadhav, M.A. Baldo, T.H. Reilly, A.C. Kanarr, A. Mohanty, J. Sussman, J. Lee, M.A. Baldo, M.W. Wilson, A. Rao, R.H. Friend, *N.C References and Notes* 340, 337–342.

- [181] **S. Che, A.E. Garcia-Bennett, T. Yokoi, K. Sakamoto, H. Kunieda, O. Terasaki, T. Tatsumi**, (2003) A novel anionic surfactant templating route for synthesizing mesoporous silica with unique structure, *Nat. Mater.* 2, 801–805.
- [182] **H.B. He, B. Li, J.P. Dong, Y.Y. Lei, T.L. Wang, Q.W. Yu, Y.Q. Feng, Y.B. Sun**, (2013) Mesosstructured nanomagnetic polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS) incorporated with dithiol organic anchors for multiple pollutants capturing in wastewater, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 58058–8066.
- [183] **S.J.L. Billinge, E.J. McKimmy, M. Shatnawi, H. Kim, V. Petkov, D. Wermeille, T.J. Pinnavaia**, (2005) Mercury binding sites in thiol-functionalized mesostructured silica, *J. Am. Chem. Soc.* 12,78492–8498.
- [184] **J. Aguado, J.M. Arsuaga, A. Arencibia, M. Lindo, V. Gascón**, (2009) Aqueous heavy metals removal by adsorption on amine-functionalized mesoporous silica, *J. Hazard. Mater.* 163, 213–221.
- [185] **K.F. Lam, X. Chen, C.M. Fong, K.L. Yeung**, (2008) Selective mesoporous adsorbents for Ag⁺/Cu²⁺ separation, *Chem. Commun.* 2034–2036.
- [186] **C.H. Huang, K.P. Chang, H. De Ou, Y.C. Chiang, E.E. Chang, C.F. Wang**, (2011) Characterization and application of Ti-containing mesoporous silica for dye removal with synergistic effect of coupled adsorption and photocatalytic oxidation, *J. Hazard. Mater.* 186, 1174–1182.
- [187] **S. Li, X. Jiao, H. Yang**, (2013) Hydrophobic core/hydrophilic shell structured mesoporous silica nanospheres: Enhanced adsorption of organic compounds from water, *Langmuir* 29, 1228–1237.
- [188] **W. Zhang, G. Ye, J. Chen**, (2013) Novel mesoporous silicas bearing phosphine oxide ligands with different alkyl chains for the binding of uranium in strong HNO₃ media, *J. Mater. Chem. A.* 1 12706–12709.
- [189] **P.J. Lebed, J.D. Savoie, J. Florek, F. Bilodeau, D. Larivière, F. Kleitz**, (2012) Large pore mesostructured organosilica-phosphonate hybrids as highly efficient and regenerable sorbents for uranium sequestration, *Chem. Mater.* 24, 4166–4176.
- [190] **Q. Zou, L. Zou, H. Tian**, (2011) Detection and adsorption of Hg²⁺ by new mesoporous silica and membrane material grafted with a chemodosimeter, *J. Mater. Chem.* 21, 14441–14447.
- [191] **X. Zhuang, Y. Wan, C. Feng, Y. Shen, D. Zhao**, (2009) Highly efficient adsorption of bulky dye molecules in wastewater on ordered mesoporous carbons, *Chem. Mater.* 21, 706–716.
- [192] **A.M. Donia, A.A. Atia, W.A. Al-amrani, A.M. El-Nahas**, (2009) Effect of structural properties of acid dyes on their adsorption behaviour from aqueous solutions by amine modified silica, *J. Hazard. Mater.* 161 1544–1550.
- [193] **M. Wawrzkiwicz**, (2012) Comparison of the efficiency of amberlite IRA 478RF for acid, reactive, and direct dyes removal from aqueous media and wastewaters, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 8069–8078.
- [194] **W. Chen, W. Lu, Y. Yao, M. Xu**, (2007) Highly efficient decomposition of organic dyes by aqueous-fiber phase transfer and in situ catalytic oxidation using fiber-supported cobalt phthalocyanine, *Environ. Sci. Technol.* 41 6240–6245.
- [195] **B. Shi, G. Li, D. Wang, C. Feng, H. Tang**, (2007) Removal of direct dyes by coagulation: The performance of preformed polymeric aluminum

- species, *J. Hazard. Mater.* 143 567–574.
- [196] **J.W. Lee, S.P. Choi, R. Thiruvengatathari, W.G. Shim, H. Moon,** (2006) Submerged microfiltration membrane coupled with alum coagulation/powdered activated carbon adsorption for complete decolorization of reactive dyes, *Water Res.* 40, 435–444.
- [197] **A. Afkhami, M. Saber-Tehrani, H. Bagheri,** (2010) Modified maghemite nanoparticles as an efficient adsorbent for removing some cationic dyes from aqueous solution, *Desalination* 263, 240–248.
- [198] **F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba,** (2006) Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials, *Angew. Chemie* 45, 3216–3251.
- [199] **N. Linares, E. Serrano, M. Rico, A. Mariana Balu, E. Losada, R. Luque, J. García-Martínez,** (2011) Incorporation of chemical functionalities in the framework of mesoporous silica, *Chem. Commun.* 47, 9024–9035.
- [200] **L.C. Hu, K.J. Shea,** (2011) Organo-silica hybrid functional nanomaterials: How do organic bridging groups and silsesquioxane moieties work hand-in-hand, *Chem. Soc. Rev.* 40, 688–695.
- [201] **B. Yameen, M. Ali, M. Álvarez, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni,** (2010) A facile route for the preparation of azide-terminated polymers. “clicking” polyelectrolyte brushes on planar surfaces and nanochannels, *Polym. Chem.* 1 183–192.
- [202] **A. Farrukh, A. Akram, A. Ghaffar, S. Hanif, A. Hamid, H. Duran, B. Yameen,** (2013) Design of polymer-brush-grafted magnetic nanoparticles for highly efficient water remediation, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 5, 3784–3793.
- [203] **K. Parida, K.G. Mishra, S.K. Dash,** (2012) Adsorption of copper(II) on NH₂-MCM-41 and its application for epoxidation of styrene, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 2235–2246.
- [204] **S. Chatterjee, S. Chatterjee, B.P. Chatterjee, A.R. Das, A.K. Guha,** (2005) Adsorption of a model anionic dye, eosin Y, from aqueous solution by chitosan hydrobeads, *J. Colloid Interface Sci.* 288, 30–35.
- [205] **I. Langmuir,** (1918) The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361–1403.
- [206] **H. Freundlich,** (1907) Adsorption in Lösungen, *Zeitschrift Für Phys. Chemie.* 57, 385–470.
- [207] **L. Zhou, C. Gao, W. Xu,** (2010) Magnetic dendritic materials for highly efficient adsorption of dyes and drugs, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2, 1483–1491.
- [208] **J. Liu, S. Ma, L. Zang,** (2013) Preparation and characterization of ammonium functionalized silica nanoparticle as a new adsorbent to remove methyl orange from aqueous solution, *Appl. Surf. Sci.* 265 393–398.
- [209] **P. Nidheesh, M. Zhou, M.A. Oturan, P. Nidheesh, M. Zhou, M.A. Oturan,** (2018) An overview on the removal of synthetic dyes from water by electrochemical advanced oxidation processes .

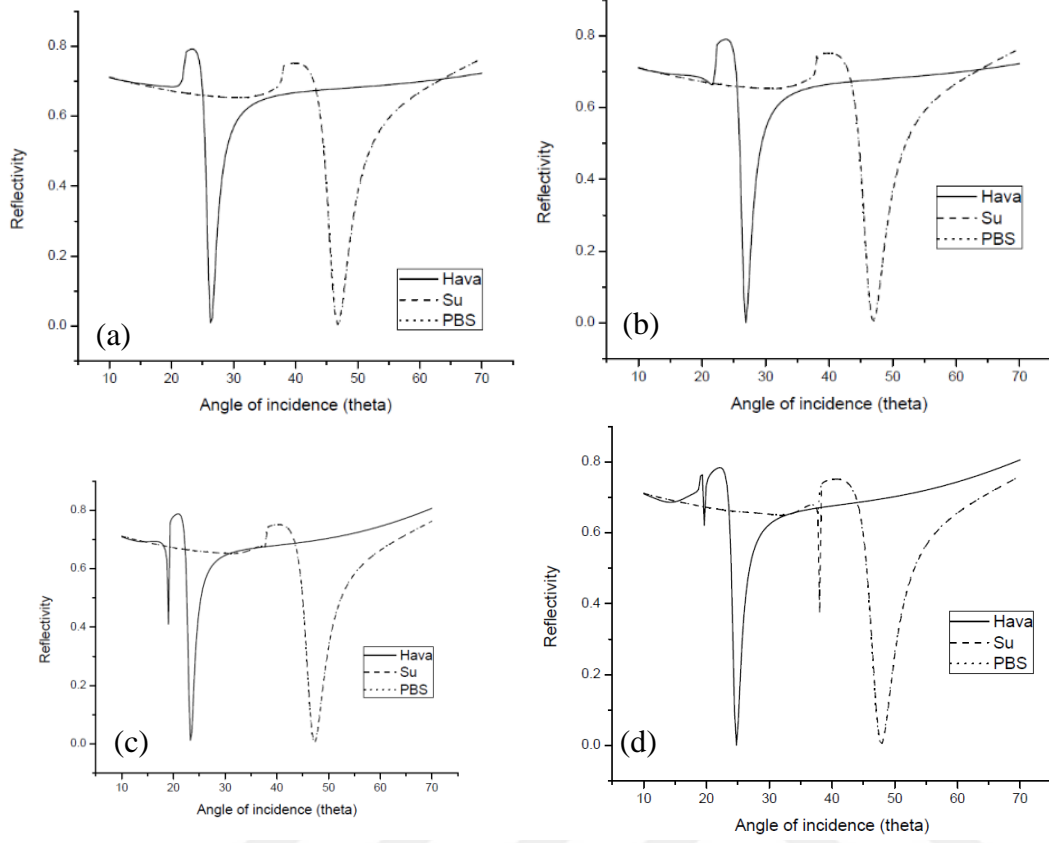
EKLER

EK 1: Tek tabaka kaplanmış nanoparçacıkların p ve s-polarizasyon simülasyonları

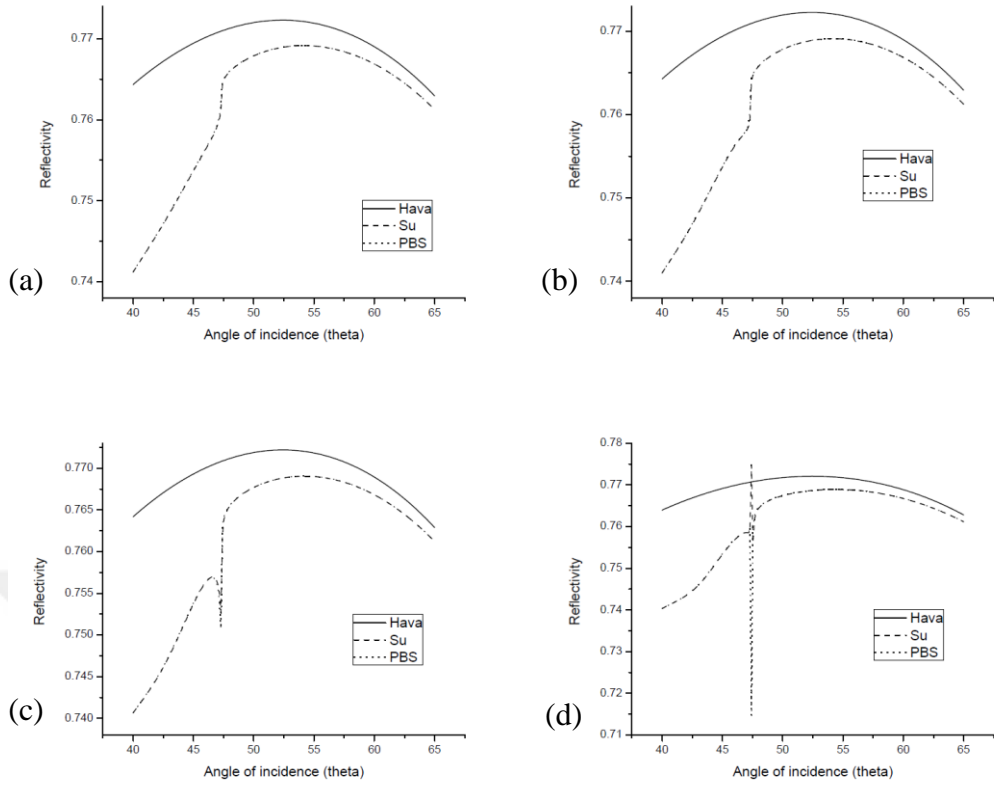
EK 2: Beş tabaka kaplanmış nanoparçacıkların p-polarizasyon simülasyonları



EK 1



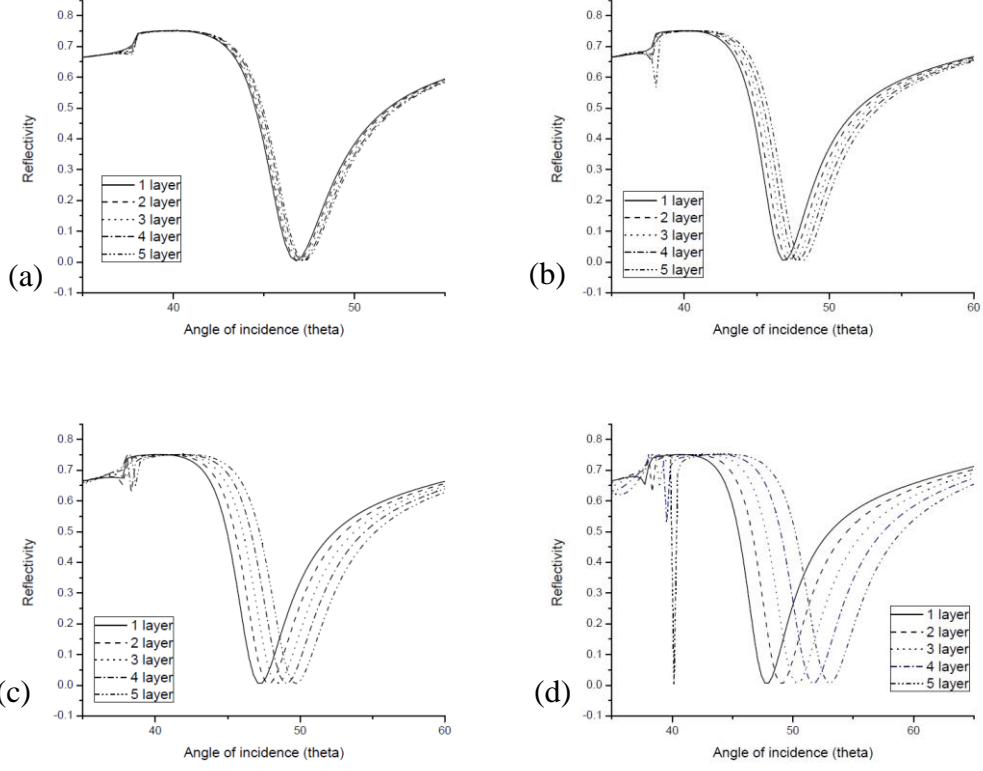
Şekil Ek 1.1 Tek tabaka kaplanmış (a) 20 (b) 50 (c) 100 ve (d) 200 nm çaplı nanoparçacıkların hava, su ve PBS ortamlarında Geliş açısı-yansıma tarama p-polarizasyon simülasyonları



Şekil Ek 1.2 Tek tabaka kaplanmış (a) 20 (b) 50 (c) 100 ve (d) 200 nm çaplı nanoparçacıkların hava, su ve PBS ortamlarında Geliş açısı-yansıma tarama s-polarizasyon simülasyonları



EK 2



Şekil Ek 2.1 Beş tabakaya kadar kaplanmış (a) 20 (b) 50 (c) 100 ve (d) 200 nm çaplı nanoparçacıkların su ortamında Geliş açısı-yansıma tarama p-polarizasyon simülasyonları



ÖZ GEÇMİŞ

Ad-Soyad : Zehra Oluz
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum Tarihi ve Yeri : 09.08.1988 / İSTANBUL TÜRKİYE
E-posta : oluzzehra@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Yüksek Lisans** : 2012, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Polimer Bilim ve Teknolojisi
- **Lisans** : 2010, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Kurum	Görev
2012-...	TOBB ETÜ	Araştırma Görevlisi
2011	Hamburg Üniversitesi	Stajyer
2009	Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi	Stajyer

YABANCI DİL: İngilizce ve Almanca

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Oluz, Z.**, Tuncel, E., Yameen, B., Farrukh, A., Duran, H. (2013) Polymer brush grafted magnetic nanoparticles for highly efficient water remediation, 2nd International Workshop on Physics Based Modeling of Material Properties and Experimental Observations, Antalya, Turkey, May 15-17.
- **Oluz, Z.**, Farrukh, A., Yousaf, A., Tuncel, E., Yameen, B., Duran, H. (2013) Tailoring of Poly (Ether Ether Ketone) Surface Properties Via Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization, 44th IUPAC World Chemistry Congress, İstanbul, Turkey, August 11-16.
- **Oluz, Z.**, Duran, H. (2014) Localized Plasmon Resonance Studies of Gold

Polymer Hybrid Nanorod Arrays for Biosensing Applications, Materials Research Society 2014 Fall Meeting, Boston, USA, December 01-05.

- **Oluz, Z.**, Nayab, S., Kurşun, T.T., Çaykara, T., Yameen, B., Duran, H. (2016) Molecular Imprinting of Silica Nanoparticle Surfaces as Biosensor via Reversible Addition-Fragmentation Polymerization for Optical Biosensing Applications, American Physical Society March Meeting 2016, Baltimore, USA, March 14-18.
- **Oluz, Z.**, Yıldırım, T., Steinhart, M., Duran, H. (2016) Optical Biosensing Applications on Molecularly Imprinted Poly (Methacrylic Acid-co-Cyanurate Ester) Nanorods via Thermal Polymerization, IUPAC World Polymer Congress, İstanbul, Türkiye, July 17-21.
- Farrukh, A.; Akram, A.; Ghaffar, A.; Tuncel, E.; **Oluz, Z.**; Duran, H.; Rahman, H.; Yameen, B. (2014) Surface Functionalized Silica Gel Adsorbents for Efficient Remediation of Cationic Dyes *Pure and Applied Chemistry*, 86 (7), 1177-1188
- Nayab, S.; Farrukh, A.; **Oluz, Z.**; Tuncel, E.; Tariq, S.R.; Rahman, H.; Kirshhoff, K.; Duran, H.; Yameen, B. (2014) Design and Fabrication of Branched Polyamine Functionalized Mesoporous Silica: An Efficient Absorbent for Water Remediation *Applied Materials and Interfaces*, 6, 4408-4417.
- Butt, A.; Farrukh, A.; Ghaffar, A.; Duran, H.; **Oluz, Z.**; ur Rehman, H.; Hussain, T.; Ahmad, R.; Tahir, A.; Yameen, B., (2015) Design of enzyme immobilized polymer-brush-grafted magnetic nanoparticles for efficient nematocidal activity *RSC Advances*, 5 (95), 77682-77688.
- Nayab, S.; Baig, H.; Tuncel, E.; **Oluz, Z.**; Duran, H.; Ghaffar, A.; Yameen, B. Silica based inorganic-organic hybrid materials for the absorptive removal of chromium *RSC Advances*, 8(42):23963-23972.
- **Oluz, Z.**; Kursun, T.T.; Yameen, B.; Caykara, T.; Duran, H. Molecular Imprinting of Silica Nanoparticle Surfaces as Biosensor via Reversible Addition-Fragmentation Polymerization for Optical Biosensing Applications in preparation.